الفيروسات والحشرات

(Insect Virology)

تأليف
أ.د. صلاح الدين النجار
كلية الزراعة - جامعة القاهرة

مؤسسة حورس الدولية

مقدمة فى علاقة

الفيروسات و الحشرات

(Insect Virology)

تأليف

أ.د. صلاح الدين حسن النجار

كلية الزراعة - جامعة القاهرة

الطبعة الأولى

2011

مقدمه فى علاقة الفيروسات و الحشرات

هذا الكتاب يلقى الضوء على أحد أقدم العلاقات بين الكائنات الحية وهى علاقة الحشرات بالفيروسات .وعلى الرغم من قدم تلك العلاقة الحيوية بينهما إلا أنه لم تكتشف أبعادها إلا منذ نصف قرن , وعرفت بدقة تفاصيل هذه العلاقة منذ ربع قرن حينما تقدمت وسائل التكنولوجيا الحيوية للتعرف على الفيروسات على وجه التحديد.

ويقدم هذا الكتاب, ولأول مرة باللغة العربية, الإطار العام للعلاقات بين الحشرات و الفيروسات ، وكيف تؤثر بالسلب أو الإيجاب فى حياة الإنسان و ثروته النباتية.

وقد أعد هذا الكتاب من أجل الدارسين و المهتمين بعلوم الحياه و علوم الربط بينها (Intersciences). ومن الجدير بالذكر أنه فى الوقت الذى ينتفع بالكتاب الدارس المتخصص، فإنه قد تم الأخذ فى الإعتبار التوضيح الكافى بلغة بسيطة، وليست فقط علمية, بحيث يسمح الكتاب لأى مثقف عام أن يستوعب المعلومات العلمية الواردة بالكتاب.

المؤلف

إسم الكتاب : مقدمة فى علاقة الفيروسات و الحشرات

المؤلف : أ.د. صلاح الدين حسن النجار

عدد الصفحات: 84 صفحة

الطبعة الأولى: 2011

دار الكتب و الوثائق القومية:

رقم الإيداع: 8706/ 2010

مقدمة فى علاقة الفيروسات والحشرات

1 مقدمة

-1

الفيروسات

علم الفيروسات شأنه شأن علوم البيولوجي جميعا، أصبح إلى حد كبير في أيدي علماء الكيمياء. فالفيروس جزيء بروتيني معقد له نشاط حيوي ممرض للكائنات النباتية و الحيوانية في البيئة. فما زال الفهم المبدئي لإيكولوجية (بيئة) الفيروس و موقعه في النظام البيولوجي العام هو المدخل الرئيسي لفهم كل ما يصل إليه العلم من إيضاحات عن النشاط المعقد للفيروس وأنماط وأنواع العوائل المتاحة له في البيئة ؛ ومن ثم تعظيم الاستفادة من تلك المعلومات في تناول و تداول الفيروسات و تحديد أهميتها الاقتصادية.

1- ظاهرة الفيروس

الفيروسات في بيئة الإنسان تمثل قدرا من التنوع البيولوجي (Biodiversity) يفوق كل ما هو موجود من تنوع فى البكتريا و النبات و المملكة الحيوانية كلها مجتمعة. و هذا في الواقع نتيجة لنجاح الفيروسات في التطفل على جميع الكائنات الحية المعروفة، وهذا التنوع الكبير بين الفيروسات هو المفتاح للتعرف على العلاقات المتداخلة بين الفيروسات و عوائلها المختلفة من الكائنات الحية.

والفيروس كظاهرة في البيئة لوحظ من قديم الأزل على صورة ردود أفعال الإصابة به على العوائل . و قد فطن الإنسان القديم إلى الظواهر الفيروسية، بل وقام بمحاولات للتطعيم ضده في بعض الأحوال من أجل الحماية من الأمراض.

أول تسجيل لإصابة فيروسية مكتوب باللغة الهيروغليفية في ممفيس عاصمة مصر القديمة منذ سنة BC 1400 قبل الميلاد ، ويوضح رجل دين عليه علامات إكلينيكية لمرض شلل الأطفال. كذلك فإن مومياء رمسيس الخامس الذي مات في BC1196 والمحفوظة بعناية في المتحف المصري ، فيها يحمل وجهه بثور الإصابة بالجدري. في سنة 1000 BC حدث في الصين إصابة وبائية بالجدري، و كرد فعل لهذا الوباء بدأت محاولات التطعيم (Vaccination). فقد لوحظ أن الأفراد الذين نجوا من وباء الجدري كانوا يتمتعون بعدم قابلية لتكرار الإصابة. و من هنا بدأ الصينيون يستخدمون عن طريق الاستنشاق مسحوق القرح الجافة عند المصابين بالمرض من أجل اكتساب صفة الحماية من الإصابة. ثم تطور الأمر إلى استخدام إفرازات القروح و تطعيمها من خلال خدوش في زراع الأطفال لحمايتهم ، وهذا التطعيم البدائي ظل يتداول لقرون عديدة إذ كان له بعض الفعل الإيجابي الواضح. ذلك بالرغم من نسبة الخطورة العالية في تلك الطريقة البدائية للتطعيم ، و التي قد

توفر نسبة من الإصابة المباشرة. و خلال عقود من المحاولات فإن التطعيم ضد الجدري خلال القرن التاسع عشر أصبح إجراءا عالميا في صوره الحديثة و الآمنة. و تطورت دراسة الأمراض فيما بعد في 1880 بظهور العالمين Kock و Pasteur .

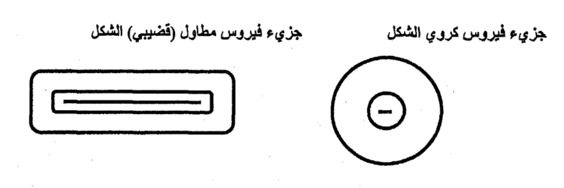
2- الفيروس يختلف تماما عن كل الكائنات الحية

فالفيروس كائن تحت ميكروسكوبي و طفيل خلوي إجباري داخل الخلايا(Intracellular) . و قد يكفي هذا التحديد في أغلب حالات المقارنة ، إلا أنه ما زالت كائنات تبدو مشابهة مثل Chalmydia, Rickettsia و هي من البكتريا وطفيليات إجبارية و داخل الخلايا أيضاً ، و تتحمل تواجدها خارج الخلايا لفترة قصيرة.

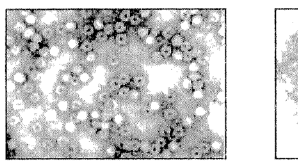
لذلك فإن تعريف الفيروس يجب أن يتضمن الحدود الصارمة الواضحة المميزة كالآتي:-

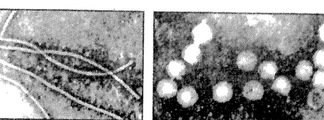
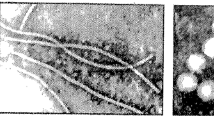
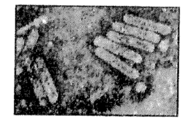
- جزيْئ الفيروس ينتج من تجميع لمكونات جاهزة، تصنعها خلايا العائل للفيروس بناء على توجيهات الفيروس. Assembly of Pre-formed component ولا ينمو الفيروس أو ينقسم. بينما الكائنات الأخرى تنمو من زيادة في الشكل النهائي المتكامل لعناصر تكوينها. وتتكاثر بالانقسام .

(Grow from an increase in the integrated sum of their components, and produce by division (



غلاف بروتيني بداخله الحامض النووي إما DNA أو RNA



جزيء فيروس كروي   جزيء فيروس خيطي   جزيء فيروس عصوي

- **الفيروسات تفتقر إلى المعلومات الوراثية**

الفيروسات تفتقر إلى المعلومات الوراثية الخاصة بتكوين أجهزة أساسية لتوليد طاقة تحول غذائي أو تخليق بروتينات مثل ما يحدث في جميع الكائنات الحية. و ليس هناك فيروسا له قدرة وراثية لإنتاج الطاقة اللازمة للعمليات الحيوية ، لذلك يعتمد الفيروس اعتماداً كاملا على خلية العائل من أجل هذه الوظيفة.

3- هل الفيروس كائن حي؟

الأمر أصبح واضحا الآن بأن الفيروس كائن حي و لكنه يختلف عن جميع الكائنات الحية.

تعقيدات جديدة

الغريب أن الدراسات الجزيئية (molecular)، أظهرت تعقيدات جديدة لمجموعة الفيروس. إذ أن هناك عددا من المسببات المرضية الجديدة التي تتشابه بوضوح مع الفيروسات مثل:-

***Viroids** : عبارة عن RNA دائري صغير جدا(200-400 Nucleotides) معه تركيب ثانوي قضيبي الشكل ليس له غلاف (Capsid) . و يرتبط ببعض الأمراض النباتية، و يتضاعف مثل الفيروسات.

***Virusoids** : هو جزيء يشبه viroid وأكبر منه قليلا ((100 Nucleotides و هو جزيء كامن Satellite يعتمد تماما على تكاثر فيروس ما لكي يتكاثر هو نفسه. و يوجد الـ Virusoid داخل غلاف هذا الفيروس (Capsid) ليستخدمه كمركبه فقط.

***Prion** : ويتكون من جزيء من نمط واحد و ليس هناك أى تركيب من الحامض النووي. والغريب أن بروتين الـ Prion وكذلك الجين الذي يعبر عنه ، كلاهما يتواجد في الخلايا الطبيعية السليمة. وهذه الكائنات مرتبطة بأمراض بطيئة التطور مثل مرض جنون البقر.

ومن الملاحظ أن ظاهرة التشابه لبعض الـ genomes للفيروس مع genomes في خلايا كائنات أخرى تشير إلى أن العلاقة بين الفيروس و الكائنات الأخرى أكثر تعقيدا مما نتصور.

2- الحشرات



كما هو معروف فان الحشرات مجموعة كبيرة من الكائنات الحية من ناحية الكم والتنوع، فان ثلاثة أرباع المملكة الحيوانية (Animal Kingdom) من صف الحشرات (Class: Insecta) فالحشرات تتضمن أشكالا مورفولوجية وتركيبية متعددة وكذلك طبائع معيشية متنوعة. والحشرات قديمة التواجد علي الأرض ، بحيث تشير الحفريات إلي قدم يصل إلي أكثر من 200 مليون سنة (في حين أن عمر الإنسان نفسه في صورته المميزة لم يصل إلي مليون سنة).

كذلك فان الصور المختلفة للأنواع الحشرية التي نراها في النظام البيولوجي الآن، هي في الواقع مراحل متقدمة جدا من تلك الكائنات التي مرت بعديد من صور التطور (Evolution) والتأقلم (Adaptation) في البيئة.

3- تطور دراسة الفيروسات وعلاقتها بالحشرات

من الطبيعي أن يبدأ الاهتمام بدراسة الفيروسات التي تسبب أمراضاً للإنسان والحيوان والنبات . وهكذا يتطور الاهتمام بدراسة الفيروسات من وجهة النظر الاقتصادية المباشرة للإنسان وثروته الحيوانية والنباتية.

وفي هذا السياق فقد لوحظت العلاقة بين الفيروسات والحشرات من خلال التعرف علي ناقلات حشرية (Insect Vectors) للفيروسات الممرضة للكائنات (نباتية أو حيوانية) التي يهتم بها الإنسان.

كذلك فقد لوحظت حالات مرضية فيروسية علي بعض الحشرات التي يعتني الإنسان بتربيتها مثل نحل العسل ، وديدان الحرير. ومن هنا كان من البديهي أن يتوجه اهتمام الإنسان لدراسة تلك الفيروسات الممرضة للحشرات بغرض حماية تلك الحشرات النافعة. ثم تظهر فيروسات ممرضة

علي حشرات ضارة أي آفات (Pests). وبالضرورة تتطرق الدراسة في كيفية الاستفادة من تلك الظاهرة في مكافحة الآفات الحشرية المختلفة في البيئة، عن طريق تناول تلك الفيروسات بالإكثار في صور مستحضرات مبيدات الحشرات الضارة.

2 علاقة الفيروسات بالحشرات

ترتبط الحشرات بمجال واسع من فيروسات متنوعة ، والتي منها ما يسبب أمراضاً للحيوانات الفقارية و اللافقارية وآخري للنباتات. وبالرغم من أهمية العوائل الفقارية والنباتية من الناحية الاقتصادية، إلا أنها من الناحية البيئية وكفاءة تواجد الفيروس في البيئة، فإن تلك العوائل تعتبر عوائل ثانوية(Secondary hosts) ، وقد تكون عوائل بالصدفة ((Accidental hosts ، وقد تكون عوائل لا توفر الدعم (Support) لتواجد الفيروس، فهي عوائل حساسة فانية (Dead end) بالنسبة للفيروس الذي يفضل عوائل أكثر تحملا للإصابة بحيث تظل حية فترة طويلة تضمن للفيروس الأنسجة الحية اللازمة لبقائه نشطا إلى حين يتوفر له عوائل أخرى. .

لذلك فان الحشرات الناقلة للفيروس (Insect Vectors) تمثل العائل الأساسي(Primary host) الذي يوفر فترة طويلة من الدعم (Support) والانتشار للفيروس، خصوصاً إذا ما لم يكن للفيروس تأثيرات ممرضة علي الحشرة الناقلة، فتكون بمثابة مركبه (Vehicle) آمنة مناسبة لتلك الفيروسات في البيئة.

وعلي سبيل المثال، فأن الأربوفيروسات (Arboviruses) التي تصيب الحيوان و الإنسان و تتكاثر داخل ناقلاتها من حشرات الذباب، وكذلك الفيروسات التي تصيب النباتات والتي تتكاثر داخل ناقلاتها الحشرية من حشرات المن ونطاطات الأوراق، كل هذه المجموعات من الفيروسات يمكن أن يطلق عليها فيروسات حشرية، إذا ما اعتبرنا أن الحشرة الناقلة هي العائل الأساسي من وجهة اعتبارها أفضل فرصة للفيروس نفسه للبقاء نشطا في البيئة. ومن ثم فإن كلا من الحيوانات الفقارية والنبات في تلك الحالة عوائل ثانوية الأهمية للفيروس نفسه بيد أنها عوائل أساسية من الوجه الاقتصادية للإنسان. والحقيقة المشتركة بين تلك

الفيروسات هي كونها نادراً ما تسبب ضررا ملحوظاً لعائلها الحشري (الأساسي) في حين يكون ضررها مهلكاً علي العائل الثانوي. وتلك الحقيقة تشير إلي جذور العلاقة بين الحشرات والفيروسات بحيث. أن تلك العوائل الثانوية

للفيروس (من فقاريات أو نبات) ، هي غالبا عوائل حديثة العهد كطرف ثالث في العلاقة إذا ما قورنت بالعلاقة الأساسية المباشرة بين الفيروس والحشرة والتي مازالت متمثلة في عدداً كبيراً من الفيروسات التي تسبب أمراضاً لعوائلها الحشرية ولا يبدو لها أي عوائل أخري ظاهرة في البيئة. على حين أن العلاقة تأقلمت و تطورت و اكتسبت الفيروسات العوائل الثانوية من الحيوان أو النبات.

1- نشأة و تطور العلاقة بين الحشرات و الفيروسات

نظراً لتواجد الحشرات على الأرض مبكراً (200 مليون سنة) فمن المعتقد أنها اكتسبت الفيروسات المرتبطة بها مبكرا أيضا فالفيروسات أيضاً قديمة التواجد من أكثر من 150 مليون سنة. و نظراً للتشابه المورفولوجي والكيميائي بين مجاميع الفيروسات بصرف النظر عن علاقتها بالحشرات. فإن ذلك فرض اعتقادا بأن جميع الفيروسات المرتبطة بالحشرات هي في الواقع من أصل واحد النشأة. وأقترح (Bawden,1950) أن فيروسات النبات و التي تنقلها الحشرات كانت في نشأتها مرتبطة بالحشرات فقط و قد تمرضها أيضاً. وأقترح (Andrew,1957) أن الأربوفيروسات التي تصيب الفقاريات كانت أيضا في نشأتها مرتبطة بالحشرات فقط و قد تمرضها. وعلى ذلك فإن هناك درجة من التأكيد بأن الفيروسات التي ترتبط بالحشرات ثم لها عوائل أخرى نباتية أو حيوانية ، كانت الحشرات هي عوائلها الأساسية في المنشأ. وهكذا خلال التطور (Evolution) فإن تلك الفيروسات اكتسبت تدريجيا عوائل أخرى متاحة في البيئة ، وملائمة لانتشار الفيروس . وبذلك تأقلمت العلاقة بين الفيروس والحشرة لكي يستخدم الفيروس الحشرة العائل كناقل (Vector) فقط ، و تظل أيضا هي العائل الأساسي كما سبق ذكره.

1- مظاهر تأكيد نشأة و تطور العلاقة بين الفيروسات و الحشرات

- **كان يظن أن** مرض الذرة المسمى Maize wallaby ear MWE)) يتسبب عن فيروس لوحظت جزئياته في نسيج نبات الذرة. إلا أنه أتضح أن هذا الفيروس هو المسبب لمرض leafhopper A virus (LAV) التي تصاب به حشرات نطاطات الأوراق المرتبطة بنبات الذرة ، و ليس مسببا لمرض الذرة (MWE). ثم أتضح بالدراسة أن مرض الذرة ينتج عن إفرازات سامة(Toxins) خلال تغذية الحشرة و ليس سببه أي فيروس. و أن تواجد الفيروس (LAV) في نبات الذرة يجعل النبات ناقلا للفيروس من حشرة إلى أخرى. كذلك أتضح أن هذا الفيروس لا يتكاثر داخل النبات بل ينتقل بين أفراد الحشرة من خلال تغذية أفراد مصابة و أخرى سليمة على نفس

النبات. في حين أن الفيروس يتكاثر داخل الحشرة المصابة ، بل و ينتقل خلال بيض الحشرة من جيل إلى جيل(Transovarial transmission).

- هناك فيروس آخر يصيب حشرة من النجيليات *Rhopalasiphom padi* و يسمى(RP virus) و هو من نوع Reoviruses و تواجد هذا الفيروس في النباتات يشير إلى استخدام النباتات كناقل بين أفراد الحشرة.

- كثير من الفيروسات النباتية من نوع Reoviruses بدأت أصلا من الحشرات ، بدليل أنها تنتقل خلال بيض الحشرات (Transovarial) في حين لا تنتقل عن طريق بذور النبات. على الرغم من أنها تستخدم الحشرة كناقل Vector و النبات كعائل حساس (Susceptible host).

- و الحشرات أكثر ملائمة للفيروس، إذ أن الحشرة عائل يتحمل الإصابة Tolerant) في أغلب الأحيان. مثلا فيروس موزيك الذرة MMV) Maize Mosaic Virus) تتجمع جزيئات الفيروس في حشرة نطاط النبات الناقلة له، بصورة أقل كثيرا من تجمع جزيئات الفيروس الهائلة في أنسجة النبات. مما يشير إلى قدرة الفيروس على تنظيم معدل تكاثره داخل العائل الحشري الناقل للفيروس النباتي داخله ، مما يحافظ على الحشرة و من ثم يوفر ظروف مناسبة لانتشار الفيروس في البيئة بواسطة العائل الحشري الناقل، في حين يستخدم العائل الحساس لإكثار تعداد الفيروس.

2- موقع علم فيرولوجيا الحشرات البيني *(Inter-science)* في علم الفيرولوجي

الفيروسات المرتبطة باللافقاريات Invertebrate virology القاسم الأعظم منها فيروسات الحشرات Insect virology، حيث تحتل الحشرات النصيب الأعظم في فيرولوجيا اللافقاريات سواء من حيث عدد الفيروسات المرتبطة بالحشرات أو تنوع العلاقة بين الفيروس و الحشرة . و ليس بغريب أن يظهر للحشرات أعداد لا نهائية من الفيروسات المرتبطة بها في علاقات مختلفة . و تتميز تلك الفيروسات بقدرتها على أن تجمع بين أنماط مختلفة من العوائل(Host types) (عوائل حيوانيـــة و نباتية في نفس الوقت).

وبذلك ترتبط فيرولوجيا الحشرات(Insect Virology) فروع علم الفيروسات (Virology) من فيرولوجيا الفقاريات و فيرولوجيا النبات . مما يؤدى إلى أتساع رقعة المهتمين بهذا العلم ، الذي كسر حاجز نمطية العوائل للفيروسات. اذ أن علم الفيرولوجى كان ينقسم إلى قسمين متباعدين هما: فيرولوجيا الحيوان (الفقارية و اللافقارية) والخاصة بنمط عوائل (Host type) حيوانية. و فيرولوجيا النبات قاصراً على نمط عوائل (Host type) نباتية. إلا أن فيرولوجيا الحشرات

(اللافقاريات) أوجد ظاهرة عبور الفيروس بين أنماط مختلفة من العوائل، فيما يسمى بالتعدد النمطي لعوائل الفيروس (Multi-type). وهكذا فان فيرولوجيا الحشرات كشفت ظاهرة تعدد نمط العوائل للفيروس الواحد و قدرة الفيروس على اكتساب عوائل جديدة في البيئة.

2 - فيرولوجيا الحشرات و الإنتاج النباتي

إذا نظرنا إلى فيرولوجيا الحشرات من ناحية الاهتمام بالإنتاج النباتي فإنه يمكن تقسيم العلاقة بين الحشرات و الفيروسات إلي قسمين رئيسيين:-

القسم الأولً : الحشرات كعائل وحيد للفيروسات.

القسم الثاني : الحشرات كناقلات للفيروسات التي تصيب النباتات.

وتشترك كل من الفيروسات التي تصيب الحشرات فقط ، وتلك التي تصيب النباتات و تنقلها الحشرات في المظاهر الأساسية الآتية:-

1- ***تسلك كل منها في الطبيعة طريقا واحدا إلى جسم الحشرة*** . فتدخل عن طريق الفم و القناة الهضمية ، ثم إلى دم الحشرة (Haemolymph) عن طريق النفاذ خلال غشاء القناة الهضمية الوسطى ((midgut . و قد تتكاثر الفيروسات النباتية داخل الناقل الحشري بدرجات متفاوتة ، كما أنها تتكاثر بشدة داخل النباتات.

2- ***العلاقة المؤكدة بين الحشرات والفيروسات*** كانت قاصرة في الماضي فقط على تلك الفيروسات النباتية التي تتكاثر داخل الناقل الحشري ، على اعتبار أن الفيروسات التي تنقلها الحشرات بسرعة أي تكتسبها(acquisition) بسرعة وتفقدها بسرعة، لا تشكل علاقة بيولوجية حقيقية. إلا أن وجود حالات التخصص المؤكدة بين الحشرات والفيروسات في هذه الحالة قد أسقط تماما هذا التعميم . بل أن تلك العلاقة السريعة قد تكون مرحلة متقدمة و متطورة من العلاقة بين الحشرات والفيروسات.

3- ***الفيروسات الممرضة للحشرات في طريقها الطبيعي*** للإصابة عن طريق القناة الهضمية للحشرة قد يصادفها مقاومة من القناة الهضمية التي على درجة من الكفاءة في صد أو التخلص من الأجسام الغريبة ، في حين أن الفيروسات الباقية التي تنقلها الحشرات تمر خلال القناة الهضمية للحشرة الناقلة بسلام ، و دون مقاومة ، و حتى بدون تكاثر؟

4- ***هناك علامة استفهام كبيرة أخري على نظرية العوائل و مصدر الإصابة للحشرات بالفيروسات الممرضة لها في الطبيعة***. فبالرغم من درجات التخصص بين الفيروسات والحشرات أحيانا على مستوى النوع من الحشرة ، فهناك محاولات ناجحة لإحداث الإصابة بالفيروس عن طريق تعرض

الحشرات السليمة لمعاملات بيئية أو كيميائية خاصة فيما يسمى بنظرية الكمون(Latency) التي سيأتي ذكرها فيما بعد.

5- هل هناك عوائل أخرى للفيروسات غير ما نشاهده في البيئة ؟

يجب أن يكون هذا الاحتمال واردا نظرا لتعقد إمكانيات الفيروس و تفاعله في البيئة. و من الأمثلة الصارخة الحديثة في العالم على عبور الفيروسات إلى أنماط جديدة من العوائل مثل فيروس الأنفلونزا الذي يعبر من الطيور إلى الإنسان و كذلك الذي يعبر من الخنزير إلى الإنسان.

لذلك فإن مانراه في النظام البيولوجي من نطاق عوائل مختلفة سواء في النوع ((Species وفي النمط (Type) ليس بالضرورة ممثلا لكل العوائل الممكنة في البيئة، خصوصا وأن الفيروس هو مهندس وراثي قديم (Genetic) engineer ، وقد يكتسب عوائل جديدة أو أنماط جديدة من العوائل في البيئة.

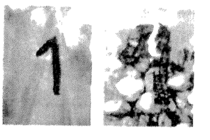
ثالثاً الحشرات كعائل مباشر ووحيد للفيروس

Insects as only hosts to viruses

كانت أول ملاحظة أو ذكر لتعرض الحشرات للإصابة المرضية بالفيروسات جاءت مكتوبة بواسطة أحد الشعراء Vida حينما تعرض إلى دودة الحرير و لاحظ فيما يبدو وباءاً مرضياً عليها فوصفه متسائلا" The tainted air`s corrupting streams or noxious food the hold latent poison فيما معناه: أهو هواء ملوث أو غذاء ملوث ؟ هذا الذي أظهر حالة التسمم القاتلة. و في الواقع أن تساؤل الشاعر جاء قريبا من الحقيقة إذ أن تلك الحالة المرضية هي ما عرف فيما بعد بفيروس البوليهيدروسيز، وتأتي الإصابة به من عوامل بقاء الفيروس في بيئة الحشرة بحيث يتلوث مصدر الغذاء ليرقات الحشرات.

1- طبيعة العلاقة بين الفيروس والحشرة

كانت البوليهيدرا (Polyhedral inclusion bodies) (شكل:1) هي بداية الاهتمام بهذه الفيروسات ، فهذه الأجسام (الجزيئات البروتينية الغريبة) تظهر في الخلايا المصابة بالفيروس ومن السهولة التعرف عليها بواسطة الميكروسكوب الضوئي العادي . وكلمة Polyhedra تعني عديدة الأوجه (أي جزيئات ذات أوجه متعددة).






يرقات حشرات مصابة بفيروس البوليهيدروسيز

ولقد أخذت طبيعة العلاقة بين البوليهيدرا و المرض شوطا طويلا من الدراسة حتى قام Von Prowazk بترشيح مستخلص من يرقات مريضة ، و ذلك خلال طبقات عديدة من ورق الترشيح ، ثم وجد أن المرشح الخالي من البوليهيدرا ما زال يسبب إصابة للحشرة، و قد فسر ذلك بالتجربة عام 1924 ، حينما قام Komark & Breindl بإضافة قلوي ضعيف إلى مستخلص البوليهيدرا لفيروس النيكليوبوليهيدروسيز لدودة الحرير NPV *Bombyx mori* ولاحظ تكسير البوليهيدرا تحت الميكروسكوب الضوئي ، أما المستخلص الناتج فما زال يسبب المرض.

في سنة 1947 كرر Bergold نفس التجربة مستخدما الميكروسكوب الإلكتروني، و بالتالي أستطاع أن يرى جزيئات الفيروس على شكل قضبان قصيرة (Rods) ترقد في هيكل البوليهيدرا (شكل: 1)

في سنة 1926 أكتشف Paillot في يرقات أبى دقيق الكرنب *Pieris brassicae* جزيئات غريبة inclusion bodies تختلف عن المألوف فقد لاحظ أعداد كبيرة من الجزيئات الحبيبية (حبيبات "granules") الصغيرة التي يمكن رؤيتها بصعوبة بالعدسة الزيتية للميكروسكوب الضوئي. كما لاحظ Steinhouse سنة 1947 نفس الحبيبات في يرقات *Peridroma mangaritosa*. ثم قام Bergold سنة 1948 بعزل قضبان من الفيروس (Virus rods) من هذه الحبيبات وتعرف عليها بالميكروسكوب الإلكتروني، وتم إطلاق الاسم جرانيولوسيز Granulosis على هذه الظاهرة ، كما سميت الحبيبات Capsules .

وقد كان Smith سنة 1950 أول من أوضح أن هناك نوعين من البوليهدروسيز يختلفان جوهريا ، وذلك حينما وجد أن البوليهيدرا المصاحبة ليرقات *Arcta* spp المريضة، توجد بصفة خاصة في سيتوبلازم خلايا القناة الهضمية الوسطى، وجزيئات الفيروس في تلك البوليهيدرا ذات شكل كروي (Spherical Isometric) ، وعلى ذلك سميت بالسيتوبوليهيدروسيز

Cytoplasmic polyhederosis virus (CPV) و الذي يختلف عن فيرس النيوكليوبوليهيدروسيز (nuclear polyhedrosis virus (NPV ذو الشكل القضيبي (rod) و الذي يوجد في نواة الخلية.

2- مجموعات فيروسات الحشرات

توالت الإكتشافات لأنواع و أنماط أخرى من الفيروسات الممرضة للحشرات، فمنها ما هو يسمى بالفيروسات المغلفة (Occluded) وأخرى غير مغلفة (Non- occluded) . وقد أشار (Tinsley & Lelly)سنة 1985 أن هناك على الأقل 11 مجموعة من الفيروسات التي تم عزلها من الحشرات . هذا وهناك أكثر من ذلك من الفيروسات التي لم يتم عزلها بعد، و ما زالت تنتظر الوصف و التعريف الدقيق ، حتى يمكن أن تتضمنها هذه القائمة . و من الجدير بالذكر أنه حتى الآن أقل من 2% فقط من الأنواع الحشرية المعروفة تم فحصها للبحث عن فيروسات . و هنا يجدر ملاحظة هامة جدا ، و هي أن الطرق التقليدية في عزل و تحضير الفيروس من الحشرات قد يكون لها أثرا في عزل فقط أنواع معينة من الفيروس دون أنواع أخرى و لذلك يجب أن يؤخذ في الاعتبار الأسباب الآتية:-

- المذيبات العضوية التي تستخدم في عمليات الفصل الأولية للفيروس هي في الواقع تقضي على أي فيرس يحتوى على دهون lipid في غلافه الخارجي.
- بعض أنواع الفيروسات قد تكون حساسة للقلويات بحيث لا تتحمل عملية الفصل الأولية Initial separation .
- بعض الفيروسات يغلب عليها التجمع بحيث تتجمع الجزيئات في كتل (Aggregation) و يمكن بسهولة أن تفقد في أول دورة للطرد المركزي على سرعات منخفضة(Low speed Centrifugation) . و الوضع الأمثل في عزل الفيروس هو إتاحة نظام خلوي جاهز بالمعمل للعزل المباشر للفيروسات من حشرات مريضة (cell system) والدراسات المتقدمة في مزارع الأنسجة (tissue culture) تبشر بالكثير من التقدم في عزل و تعريف الفيروسات ، و هذا يتوقف على نجاح زراعة النسيج (tissue culture) والتي تختلف درجة نجاحه إختلافاً متبايناً في المعامل المختلفة ، و كذلك بين الأفراد وحتى من محاولة إلى أخرى بواسطة الفرد. ومازالت زراعة الأنسجة عملية مكلفة إلى أن يمكن استخدام بيئات الأنسجة لمرات عديدة (Recycling).

و فيما يلي أشهر المجموعات من الفيروسات الممرضة للحشرات، و صفاتها الأساسية الهامة اقتصاديا:

Family العائلة	Nuclic acid نوع الحامض النووي	Particle shape شكل الجزيء	Association with inclusion Bodies أجسام مصاحبة	Biochemical &Biophysical Similarities التشابه القريب مع فيروسات الفقاريات و النباتات	
				Vertebrates	Plants
Baculoviridae	DNA	Rod	+	-	-
Poxviridae	DNA	Ovoid	+	+	-
Reovirdae	RNA	Isometric	+	+	+
Iridoviridae	DNA	Isometric	-	+	-
Parvoviridae	DNA	Isometric	-	+	-
Caliciviridae	RNA	Isometric	-	+	-
Picornaviridae	RNA	Isometric	-	+	+
Rhabdoviridae	RNA	Bullet-shaped	-	+	+
Nodoviridae	RNA	Isometric	-	+	-

وفيما يلي التعريف ببعض الفيروسات الحشرية الشائعة: وهى تقع تحت مجموعتين رئيسيتين:-

2-1- الفيروسات المغلفة *Occluded viruses*

وهي الفيروسات التي تتميز بتواجد أجسام بروتينية مصاحبة (inclusion bodies) ترقد بداخلها جزيئات الفيروس ومنها:-

2-1-1- فيروسات النيوكليوبوليهيدروسيز NPV شكل (1)

جزئ الفيروس عصوي قضيبي الشكل rod-shaped طوله 250-300 nm، عرضه 60-50 nm= 1/1000 micron) nm (nanometer) (و الشفرة الوراثية genome))

تحتوى على الحامض النووي DNA. وتتواجد جزيئات الفيروس بالمئات داخل كل جزيء من الغلاف البروتيني المسمى بالبوليهيدرا (Polyhedra inclusion body) . وفيروسات الـNPV كما يتضح من التسمية تتكاثر في نواة خلية العائل . و يغزو الفيروس أنسجة الجسم الدهنى والجلدepidermis وخلايا الدم، و القصبات الهوائية و نادرا غدد الحرير ، و أحيانا يغزو القناة الهضمية الوسطى كما في يرقات حشرات *Plusia chaloytes*، و *Bombyx mori* .

2-1-2- فيروسات السيتوبوليهيدروسز CPV

جزئ الفيروس كروي الشكل (Spherical (isometric، و يحمل على سطحه الخارجي بروزات – جزيء الفيروس يتراوح قطره 60-70 nm . و يحتوى على الحامض النووى RNA. وتوجد جزيئات الفيروس بالآلاف داخل جزيء الغلاف من البوليهيدرا الواحدة. وتتكاثر فيروساتCPV كما يتضح من التسمية في السيتوبلازم و تغزو بصفة خاصة أنسجة القناة الهضمية الوسطى للعائل، ثم جميع أنسجة يرقة الحشرة المصابة.

3-1-2- خصائص البوليهيدرا شكل (1)

- جزيئات بروتينية تختلف في الشكل و الحجم حسب نوع الفيروس ، بل قد تختلف إلى حد ما في نوع الفيروس الواحد ، بينما تكون أكثر تجانسا في الخلية الواحدة . الجزيء متعدد الأوجه يتراوح في الشكل من شكل غير منتظم الأوجه إلى شكل ذو أربع أوجهTetrahedron أو ستة أوجه Hexahedron أو ذو 12 وجهDodecahedron .
- يتراوح حجم البوليهيدرا من ½ إلى 15 ميكرون حسب نوع الفيروس . و يتحكم في شكل البوليهيدرا نوع الفيروس و ليس خلية العائل. و قد يكون للشكل و الحجم علاقة تكشف عن سلالات من الفيروس ، بحيث يمكن عزل شكل ما عن طريق انتخابه و حقنه في عائل سليم للحصول على عزلة أو سلالة . و للسلالات أهمية في دراسات العدوى المتبادلة و التداخل بين الفيروسات.

ومن الجدير بالذكر أن عامل الوراثة هو المتحكم في الأشكال و السلالات.

- البوليهيدرا لا تذوب في الماء أو الكحول و على درجة من المقاومة لفعل الإنزيمات. إلا أنها بمجرد تعرضها لقلوي ضعيف ، فإنها تتكسر أو تتحرر منها جزيئات الفيروس. ففي حالة NPV تتكسر البوليهيدرا و تخرج منها الفيروسات أما في حالة CPV فتتحرر الفيروسات تاركة هيكل البوليهيدرا يظهر به ثقوب مستديرة هي مكان جزيئات الفيروس التي تحررت.
- بوليهيدرا الـCPV أكثر مقاومة للقلويات الضعيفة عن بوليهيدرا الـ NPV ، كما أن الأولى تأخذ أشكالا أكثر تنوعا عن الأخيرة ، فيظهر فيها المستدير و المعين. و تأخذ بوليهيدرا الـ CPV

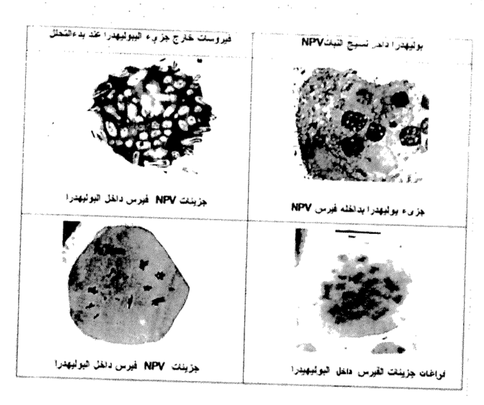
الصبغة بالجمسا(Giemsa`s) بينما لا تأخذها بوليهيدرا الـNPV ، في حين أن كلاهما يأخذ الصبغة بأسود النفثالين Naphthalene black و ذلك اختبار معملي سريع للتفرقة بينهما بالفحص بالميكروسكوب الضوئي.

2-1-4- فيروسات الجرانيولوسيز (GV)

جزيء الفيروس عصوي قضيبي الشكل(rod-shaped) ، طوله حوالي 210-260 nm و عرضه 30-33nm ، و يحتوي على الحامض النووي DNA. و يوجد كل جزيء من الفيروس داخل حبيبة "granule " يبلغ قطرها300-400 nm . و في حالات نادرة تحتوي الكبسولة الواحدة على عدد قد يصل إلى 9 فيروسات جزيئات فيروسية و الشائع هو تواجد جزيء واحد من الفيروس داخل الكبسولة الواحدة ، والكابسول لا يذوب في الماء أو الكحول ، و يقاوم فعل الإنزيمات ، و لكنه يذوب بسهولة في القلوي الضعيف.

و فيروسات الجرانيولوسيز توجد في النواة لخلية العائل أو السيتوبلازم أو كلاهما حسب نوع الفيروس فمثلا فيروس حشرة أبو دقيق الكرنب GV *Pieris brassicae* يوجد في النواة ، بينما فيروس حشرة *Natada narraria* GV يتواجد في السيتوبلازم للخلايا المصابة . أما في حالة فيروس حشرةsp *Christoneura* GV فيتواجد في كل من السيتوبلازم والنواة في نفس الوقت.و يغزو الـ GV الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى ، و الجسم الدهني ، و أحيانا القصبات الهوائية و الجلد.

شكل1:







فيروس الجرانيولوسيز GV (كبسولة granule بداخلها جزىء فيروس قضيبى الشكل)

شكل 2:

Viruses Infecting Invertebrates فيروسات تصيب الحشرات	
فيروسات مغلفه OCCLUDED ds DNA Entomoboxvirus	فيروسات غير مغلفه NON OCCLUDED ds DNA Iridovirus الفيروسات القزحية
ds DNA Baculovirus	ssDNA Picornovirus

2-1-5- فيروسات البوكس الحشرية: Entomopox viruses (شكل: 2)

أكتشفها (Vago1963) في حشرات من غمدية الأجنحة Coleoptera ، ومستقيمة الأجنحة Orthoptera وحرشفية الأجنحة Lepidoptera، و ذات الجناحين Diptera. جزيئات الفيروس كبيرة الحجم، تأخذ شكلاً بيضاوياً ((Oval أو مكعب (Brick). و قد يظهر بروزات على الغلاف الخارجي، تعطى لجزيء الفيروس شكل يشبه ثمرة الفراولة. و يحتوى الجزيء على جسم مركزي غير منتظم الشكل يظهر في صور مختلفة حسب نوع الفيروس. و يتكون هذا الجزء من طبقات و بداخله تركيب خيطي مرن ملتف في ثنيات و حلقـات. وتختلف تلك الفيروسات في أحجامها حسب نوع الفيروس فأصغرها ذو حجم 320 X nm230 وتصيب حشراتDiptera ، و أكبرها400 X 250 nm وتصيب حشراتOrthoptera . و الحامض النووي من نوع

DNA ، و تتكاثر في سيتوبلازم خلايا الجسم الدهني و خلايا الدم. و تغلف تلك الفيروسات بغلاف بروتيني كبير ، و مستدير يسمى بالكريات (Spherules)، و تظهر جزيئات الفيروس داخل تلك الأجسام المصاحبة (inclusion bodies (.I.B بترتيب مميز لكل نوع من الفيروس. و يبلغ حجم الكرية Spherule من 10-20 ميكرون. و الخلايا المصابة بتلك الفيروسات أيضا ينتج فيها أجسام أخرى (I.B.) مصاحبة للفيروس ، و ذات شكل مغزليSpindle-shaped bodies ، و تبلغ من 5-10 ميكرون. و من الجدير بالذكر أن البروتين الذي تتكون منه يختلف عن كل من بروتين الكريات(Spherules)، و بروتين الفيروس نفسه ، مما يؤكد وحدة النشأة.

2-2- الفيروسات غير المغلفة *Non-Occluded viruses* (شكل: 3)

و هي فيروسات حرة لا يصاحبها أغلفة خارجية يرقد بداخلها الفيروس كما الحال السابق الذكر، مثال:

2-2-1- الفيروسات القزحية (Iridescent viruses)

وجزيء الفيروس كبير الحجم حوالي 130nm، و يتميز بأنه ذو عشرون وجه Icosahedral ، و الحامض النووي DNA و يتكاثر في السيتوبلازم ، و تغزو بصفة خاصة خلايا الجسم الدهني ، ثم تنتشر في جسم الحشرة بكميات كبيرة تصل إلى 25% من الوزن الجاف للحشرة.

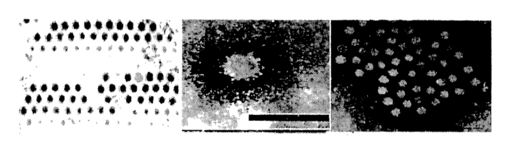
2-2-2- مجاميع الفيروسات الكروية الصغيرة

Parvoviruses (Densoviruses)

وجزيء الفيروس كروي صغير يتراوح من22-18 nm، و يتميز بأنه عديد الأوجهIcosahedral ، و تظهر الجزيئات في الأنسجة بترتيب متناسق (symmetrical) الحامض النووي DNA . وتغزو جميع الأنسجة و تتكاثر في نواة الخلية.

شكل: (3) : الفيروسات غير المغلفة

فيروسات قزحية فيروسات كروية صغيرة



3 - وصول الفيروس للعائل

يصل الفيروس لعائله الحشري في الطبيعة بطريقتين:-

3-1- عن طريق الفم Ingestion

وهو الطريق الرئيسي لوصول الفيروس للحشرة من أجل بدء الإصابة . و يحدث ذلك نتيجة تلوث غذاء الحشرة في الطبيعة بلقاح من الفيروس. و المصدر الأساسي للقاح الفيروس في الطبيعة هي الحشرات المصابة بالفيروس في بيئة الحشرة و التي ينفجر جسمها لتخرج منه كمية كبيرة من جزيئات الفيروس منتشرة على مسطح النباتات وتصبح مصدرا للعدوى . و من الجدير بالذكر أن العوامل البيئية تلعب دورا في تواجد الفيروس في صورة فعالة (active) في بيئة الحشرة. إذ أن فترة بقاء الفيروس فعالا في الطبيعة هي محصلة درجة ثبات الفيروس تحت الظروف المعاكسة مثل أشعة الشمس و درجات الـpH و خلافه.

3-2- الإنتقال عن طريق البيض Transovarial transmission

ويعنى انتقال الفيروس إلى الجيل التالي للحشرة عن طريق البيض (Transovarial) و قد لوحظت تلك الظاهرة أولا في الفيروسات القزحية (iridescent) أن اليرقات من حشرات (الذباب) ذات الجناحين(Diptera) التي تتعرض للفيروس في الأعمار الصغيرة حتى العمر الثالث غالبا ما تموت. أما إذا ما تعرضت اليرقات الكبيرة العمر فيمكن أن تهرب من الإصابة في الطور اليرقى

و تدخل في طور العذراء و تخرج الحشرة الكاملة و تضع بيضا ثم تخرج منه يرقات تظهر عليها الحالة المرضية.

كذلك فقد أشارت بعض الدراسات إلى حدوث الظاهرة (الانتقال عن طريق البيض) في بعض حالات الإصابة لحشرات حرشفية الأجنحة (Lepidoptera) بفيروسات NPV، و أيضا بفيروسات GV ، و أشهرها حالة حشرة أبو دقيق الكرنب GV *Pieris brassicae* و التي تهرب فيها اليرقات من الإصابة في حالة المعاملة بجرعات منخفضة sub-lethal doses من الفيروس ليست كافية لإحداث الإصابة . و ينتقل الفيروس داخليا من خلال البيض أثناء تكوينه إلى اليرقات حديثة الفقس. و الجدير بالذكر أن تلك الصورة من الانتقال للفيروس عن طريق البيض داخليا ليست مؤكدة .

3-3- الإنتقال خارجياً عن طريق البيض Transovum transmission:

هناك من الدراسات ما يؤكد ، خصوصاً في حالات الـ NPV أن الانتقال عن طريق البيض هو مجرد انتقال خارجي (External)أي مجرد تلوث خارجي لسطح البيض نتيجة التلوث الخارجي لجسم الحشرات الكاملة سواء كانت إناثا أو ذكورا من جراء التعرض للسطوح النباتية الملوثة بالفيروس ، و عليه تتعرض اليرقات حديثة الفقس لهذا التلوث نتيجة التغذية. و يتم الانتقال عن طريق البيض في هذه الحالة خارجيا(Transovum) .

ولا يزال الـ Transovum هو التفسير المقبول لأغلب حالات انتقال الفيروس عن طريق بيض العائل الحشري. (على الرغم أنه في عام 1996 جاءت دلائل تجريبية لحالة من Transovarial إلا أنها ذكرت لحالة واحدة لم يتكرر ذكرها ثانية، مما يجعلها غير مؤكدة)

وعلى ذلك فإن وصول الفيروس للعائل هو في جميع الأحوال عن طريق الفم و نتيجة لتغذية العائل على الفيروس المتاح خارجيا على سطوح ملوثة به.

تمرين

صمم اختبارا لانتقال فيرس NPV خلال البيض للحشرة العائل مستخدما مستحضر من الفيروس ، و مزرعة من الحشرة خالية من الإصابة – يمكن استخدام بخار الفورمالدهيد 10% كوسيلة للتعقيم الخارجي للبيض ضد التلوث الخارجي بالفيروس.

4 - مصير الفيروس المغلف داخل العائل

بمجرد تعرض أجسام البوليهيدرا المصاحبة للفيروس (Polyhedra inclusion bodies) لقلوي ضعيف، يتكسر الغلاف البروتيني أو تخرج منه الفيروسات حرة. و لهذا فبمجرد دخول البوليهيدرا معدة الحشرة فهي تتعرض للقلوية اللازمة لتحرير الفيروس و بدء الإصابة. هذا بجانب إحتمال تعرض الفيروس لإنزيمات. وغالبا ما يقاوم الفيروس ذات الأثر المثبط على الفيروس الحر. و لذلك كان من الضروري لكثير من الفيروسات أن تبدأ في غزو الأنسجة بسرعة حتى تنجح الإصابة. وأقرب الخلايا هي خلايا القناة الهضمية . وهذا ما كان يلاحظ فعلا في حالة فيروسات السيتوبوليهيدروسيز. وكان الاعتقاد السائد أن جميع فيروسات النيكليوبوليهيدروسيز لا تتكاثر في أنسجة القناة الهضمية ، بالرغم من أن الإصابة بها تتم عن طريق الفم و القناة الهضمية. إلا أنه سنة وجد تكاثر لفيروس من نوع الـ NPV في أنسجة القناة الهضمية الوسطى حيث شوهد الفيروس بكثرة و لكن بدون أغلفة (بالرغم من ملاحظة أجزاء من الأغلفة) و ذلك في النواة للخلايا المتراصة في

القناة الهضمية. و قد كان يستحيل ملاحظة ذلك بالميكروسكوب الضوئي. و من هنا وضح أن خلايا القناة الوسطى mid gut هي في الواقع أول نسيج يغزوه الفيروس في جسم الحشرة .

ومن الجدير بالذكر أن عدم تكوين البوليهيدرا الكاملة في خلايا القناة الهضمية في حالة الـ NPV قد يقلل من إنتاج البوليهيدرا الناتجة بعد موت العائل، أما تكوين جزيئات البوليهيدرا الكاملة في حالة الـ CPV فيزيد من إنتاج جزيئات بوليهيدرا فعالة تنتشر فيما بعد موت العائل. و هذا يفسر تفوق إنتاج الأجسام المصاحبة المحتوية على الفيروس في حالة السيتوبوليهدروسيز عنه في النيوكليوبوليهدروسيز.

5- الإصابة الكامنة (غير الظاهرة) بالفيروس: Latent viral infection

و يقصد بها ظهور حالات من الإصابة بالفيروس على حشرات سليمة أو لم تتعرض ظاهريا إلى هذا الفيروس. و الظاهرة Latency " عموما تلاحظ في جميع الكائنات الحية من البكتريا إلى الإنسان ، و تبدو أكثر وضوحا في الحشرات. و تظهر الإصابة الكامنة في صورتين أساسيتين:-

- ظهور إصابة بالفيروس على حشرات سليمة نتيجة تعرضها لمؤثرات معينةstressors مثل: التزاحم – درجات الحرارة العالية- المعاملة بأشعة إكس أو المعاملة بالكيماويات خاصة مواد الاختزال مثل (EDTA أو azide Sodium) و قد لوحظت الظاهرة في بعض يرقات Lepidoptera. و فيها أعتبر الفيروس كامنا في صورة ما . و لا يزال تلك الكمون غامضا سواء في طبيعته أو آليات تنشيط الفيروس الكامن و ظهوره فيما بعد.
- الملاحظة المستمرة لجزيئات شبيهه بالفيروس (بأعداد قليلة)virus –like particles في أنسجة حشرات سليمة بالرغم من عدم تعرضها لأى مسبب أو ظهور أى إصابة. و تلاحظ تلك الظاهرة مثلا في حشرات المن و نطاطات الأوراق و الدوروسوفيلا. فبالرغم من ظهور تلك الجزيئات الشبيهه بالفيروسات إلا أن أهميتها ما زالت تنتظر الدراسة.

5 -1- تفسير ظاهرة الإصابة الكامنة (غير الظاهرة):

5-1-1- يعتقد البعض أن تلك الظاهرة لا تتعد مجرد تلوث بالفيروس يحدث بطريقة ما تحت ظروف معينة ، خصوصا في المعمل ، فكثيرا ما تفشل تربية حشرة ما في المعمل نتيجة ما يعزى إلى الإصابة الكامنة. إلا أنه قد يمكن في أغلب الأحيان التغلب على تلك الصعوبة بإجراء تعقيمات خاصة

للحشرة و أدوات التربية بجانب الأساليب الوقائية، بحيث أمكن تقليل أو تلافي حدوث الموت . إلا أن عدم حدوث الموت ليس دليلا كافيا على عدم وجود الفيروس.

5-1-2- لذلك يعتقد البعض في وجود ظاهرة الكمون، و الإعتقاد هنا أن الكائنات الحية المختلفة بما فيها الحشرات تحمل المكونات اللآزمة لتكوين الفيروس الخاص بها على الكروموزومات (the necessary components for virus formations) ، و مازالت المحاولات مستمرة لتفسيرها ، و هناك محاولات ناجحة لإظهار الإصابة الكامنة عن طريق معاملات خاصة مثل(stressors):-

* المعاملة بالـEDTA يمكن أن يظهر حالات بالـNPV على يرقات ديدان الحرير.

* تظهر بإنتظام حالات من الـ CPV في يرقات ديدان الحرير ، كذلك الحال في يرقات الـ *Heliothis* ,وذلك مصاحبة للإصابة بـ NPV.

* في تجارب العدوى المتبادلة (Cross infection) أمكن بالمعاملة بالفيروس الغريب (virus Heterologous) أن تظهر الإصابة الكامنة بالفيروس المتخصص لحشرة ما (Homologous virus) . و قد فسر ذلك على أساس أن الفيروس الغريب يعمل كحافز(Stressor) كما تعمل بعض الكيماويات.

* بل أن هناك حالة أمكن فيها إستعمال فيرس نباتي TMV)) لتحفيز الإصابة الكامنة

* لوحظ ظهور فيروس السيتوبوليهدروسيزCPV)) في خلايا مزروعة من يرقة حشرة *Antheraea eucalypti* حينما أضيفت للمزرعة جزيئات فيروس النيوكليوبوليهدروسيز(NPV).

ومن الجدير بالذكر أن هناك كمون (حالة من الكمون) لهذه الفيروسات ، و تخرج منها تحت ظروف تنشيطية مختلفة كما سبق ذكره.

وقد وضعت لظاهرة الكمون (Latency) تفسيرات كلها تعتمد على عنصر التنشيط الذى يتم بالكيماويات أو الغلاف البروتينى (غلاف البوليهيدرا).

وهناك دلالات حديثة من خلال تكنيك البيولوجيا الجزيئية ، بأن الحامض النووى للفيروس يتواجد في جميع أطوار الحياة للحشرات التى تبدو سليمة تماما. لذلك فهو ينتقل تلقائيا من جيل إلى آخر و هناك نظرية قديمة تفسر أن الكائنات المختلفة تحمل المكونات اللآزمة لتكوين الفيروس على الكروموزومات.

وتفسر هذه النظرية أن الفيروس ينظم تواجد عائله (من أجل البقاء). و على ذلك فإن درجة الـ (latency) التى تبدأ في الظهور تعتمد على إستراتيجية الفيروس في تنظيم العائل ، فيظهر أو يكمن الفيروس ، و قد تتدخل عوامل أخرى خارجية في هذا التنظيم عن طريق أثرهذه العوامل ، في تغيير تعداد الحشرة العائل مثلا. وهذا قد يفسر أيضاً حالات الإصابة المزمنة ببعض الفيروسات و التى لاتؤدي إلى الموت السريع للعائل.

6- التداخل Interference

ويقصد به التداخل بين الفيروسات المختلفة داخل نسيج العائل في حالة الإصابة المشتركة (mixed infection) وهى الظاهرة التى تبحث فيما يحدث إذا تعرض العائل لأكثر من فيرس واحد في آن واحد. وما يحدث حينما يتواجد فيروسان مختلفان داخل الحشرة فتتوقف النتيجة على ما إذا كان هناك منافسة بينهما على نسيج معين أو أن كلاهما يمكنه التكاثر في نسيج منفصل. وهنا يجدر الاشارة إلى أن التداخل بين فيروسات النبات ناله قسطا أكبر من الدراسة فهناك ظواهر ثابتة لحالات من الحماية المتبادلة (cross protection)، والتنشيط ((synergism وحالات المساعدة للفيروس المعتمد (Dependent & helper virus) وكذلك حالات (الخلط المظهرى) التغليف المتبادل Heterologous encapsidation ومع ذلك فبالنسبة لفيروسات الحشرات تشير بعض الدراسات إلى حالات مشابهة لذلك مثل:

* الحماية المتبادلة أوالسلالات المنافسة Challenge virus : **فعند** إستعمال سلالتين من الـ CPV أحدهما تتميز فيها البوليهيدرا بالشكل ذو العشرين وجه icosahedra والأخرى ذو الستة أوجه hexahedral ، وجد أنه كلما كانت أحد السلالات أكبر من حيث الجرعة زادت نسبة الإصابة بها عن السلالة المنافسة Challenge virus)) إذا ما تعرض العائل لكلا السلالتين معا. و المقصود بالحماية المتبادلة هنا أن أحد الفيروسين أو السلالتين تنجح في الاصابة ثم تحمى العائل من الاصابة بالفيروس الاخر أو السلالة الأخرى.

6-1- العوامل التى تؤثر في التداخل بين الفيروسات في عوائلها من الحشرات

- **العوامل البيئية:** مثل درجات الحرارة وأثرها المباشر على الأنواع المختلفة من الفيروسات وغير المباشر على العائل و درجة حساسيته .
- **نوع العائل:** وحساسيته لكل فيرس وعمر الطور اليرقى وبالتالى درجات الملاءمة.
- **الجرعة:** من كل فيرس التى يتعرض لها العائل.

- تتابع دخول: الفيروسات في جسم العائل وتظهر أهمية هذا العامل في توفير الأولوية لدخول أحد الفيروسات و التي قد تعطي ميزات من حيث سرعة التكاثر خصوصاً في حالة المنافسة على نفس النسيج للتكاثر.

7- التخصص بين العائل و الفيروس Host-specificity

التخصص هو التوافق بين نوع الفيروس، والعائل الحشري والذي يسمح للفيروس بإصابة خلايا العائل أو عدم اصابتها (اما توافق أو عدم توافق).

ويحدد التخصص درجة من التوافق للفيروسات مع عوائلها من الحشرات، والتخصص لذلك من العوامل المحددة لدراسة وبائية الممرضات في البيئة.

ويتحدد المدى العوائلي Host range)) للفيروس عن طريق اختبارات العدوى المتبادلة بشرط التأكد من:

- نوع الفيروس المسبب للعدوى ومطابقته للفيروس المستخدم في الاختبار.
- نقاء الفيروس المستخدم في الاختبار، حتى لا يكون هناك أى تلوث ولو ضئيل من فيروس أخر
- الاخذ في الاعتبار الاصابة الكامنة Latency .

و يرتبط التخصص بالوضع التقسيمي للعائل الحشري كالآتي:-

7-1- تخصص على مستوى الرتب الحشرية Insects orders))

يتمثل في قدرة نوع من الفيروسات في اصابة أنواع حشرية تابعة إلى أكثر من رتبة حشرية. وهذه ظاهرة تكاد تكون **قليلة الحدوث** مثل الفيروس القزحي(IV) لحشرة (Gypsy moth) وهى من حرشفية الأجنحة ، ويصيب الفيروس جنسين من Neuropteran (شبكية الأجنحة). كذلك بالنسبة لفيروس السيتوبوليهيدروزيس CPV *Vanessa io* والذي يصيب أيضا نوعين من حشرات Neuroptera . كذلك فيروس التبيلا القزحي (Tipula iridescent (TIV له عوائل من رتب حشرية متعدده.

7-2- تخصص على مستوى العائلة الحشرية (Insects families)

وفيه تنحصر العوائل في اطار عدد محدود من العائلات الحشرية أو عائلة واحدة مثل فيروسات النيوكليوبوليهيدروزيس NPV *Galleria mellonella*, NPV. *Antosreph colifomier* والأخير له عوائل كثيرة من عائلةNoctuidae, و Pyralidae الحشرية.

7-3- التخصص على مستوى الأنواع الحشرية (Insects species)

وفيها للفيروس عوائل محدودة في نطاق العائلة الواحدة و غالبا الجنس الواحد. وفي جميع الأحوال يختلف درجة الحساسية باختلاف العوائل فيكون أحدهما أكثرها حساسية مثلا. و هو غالبا ما يكون العائل الشائع للفيروس أو المعزول منه الفيروس.

مثل فيروسات الجرانيولوسيز (GV) : GV *Pieris brassicae* وفيروسات النيوكليوبوليهدروسيز:(NPV) مثل (NPV)فيروس الدودة القارضة و *A. segetum* GV له عوائل من 17 نوع من الحشرات التابعة لعائلة Noctuidae في حين يصيب *H. zea* NPV الأنواع التابعة للجنس (genus)) فقط (*Heliothis zea* SNPV) .

ويصل التخصص في كثير من الحالات إلي مستوى النوع الواحد ولكن ذلك يستلزم الاختبارات المكثفة قبل الوصول إلي هذا التحديد.

وتعتبر فيروسات GV أكثر الفيروسات الحشرية تخصصا حيث تقتصر الاصابة في الانواع على مستوى الجنس الحشرى يلي ذلك مجموعة فيروسات النيوكليوبوليهدروسيز المغلفة فرديا (Singly embedded) يليها المغلفة في أعداد (multiple embedded) أما الفيروسات غير المغلفة فأقل الأنواع في التخصص.

7-4- تخصص السلالات داخل الفيروس الواحد

وهذا يعتبر درجة من التخصص النسبى أى أن تظهر سلالة أكثر فعالية من سلالة أخرى داخل الفيروس الواحد وعلى نفس العائل. وهذا وارد في جميع الفيروسات (نظريا) علاوة على أن الارتداد وارد أيضا وقد ساعد كثيرا التقدم الحديث في تعريف وتحديد الفيروسات سواء بالطرق السيرولوجية أو البيولوجية الجزيئية – ساعد في تحديد درجات التخصص في صورة دقيقة.

والتخصص للفيروس على العائل يحدد ما إذا كان عائلا أم لا أما الحساسية فهى درجة رد فعل العائل للإصابة بحيث يتوفر علاقة مضطردة بين درجة الاصابة والموت و جرعة الفيروس فيما يسمى Dose mortality response.

و مقاومة العائل للاصابة هى غالبا إنتخابا لسلالة من العائل أقل درجة في الحساسية. و من الوارد أن ترتد السلالة الى حساسيتها الأولى للفيروس. أما المناعة اذا حدثت فهى أقصى درجات المقاومة للاصابة بالفيروس .

8- حساسية العائل الحشرى للفيروس

Susceptibility to virus infection

درجة حساسية الحشرات للفيروس ليست بالوضوح الكافي الذى يعلل مظاهر الاختلاف في الحساسية سواء باختلاف النوع الحشرى أو اختلاف الاطوار المختلفة في النوع الواحد. الا أنه من المؤكد أيضا ان تواجد و درجة سمك غشاء غلاف الغذاء (Pre-trophic membrane) في القناة الهضمية يلعب دورا فاعلا في مقاومة أو تسهيل غزو الفيروس و من ثم درجة الاصابة و الحساسية. هذا علاوة على الظواهر الأتية:

8-1- الطور اليرقي في الحشرات يبدو أكثر الأطوار حساسية لفيروسات NPV مثلا وقد فشلت محاولات إصابة طور العذراء فى الحشرة عن طريق حقن الفيروس في الدم إلا أن نجاح الإصابة التى تؤدى إلى موت العذارى لم يحدث إلا في حالات الحقن بتركيزات عالية من الفيروس ومع ذلك فان عدم ثبات نسب قياسية للعلاقة بين الجرعة وحدوث الإصابة في هذه المحاولات، يؤكد عدم توفر درجة الحساسية في طور العذراء.

8-2- تتأثر درجة حساسية اليرقات للإصابة بالفيروس بمؤثرات بيئية **Stressors** كما سبق ذكره مثل التزاحم بين اليرقات في حيز محدود وظروف الرطوبة العالية وكلاهما يزيد من درجة حساسية الحشرة.

8-3- الأعمار الصغيرة من اليرقات أكثر حساسية للفيروس عن الأعمار الكبيرة بالرغم من الأخذ في الاعتبار وزن الجسم للحشرة فمثلا وجد أن الجرعة الوسط المميته LD_{50} لليرقة عمر 8 أيام كانت ثلاثة أضعاف ما يلزم لليرقة عمر 3 أيام وعند حساب الجرعة على أساس وزن الجسم كانت الزيادة ضعفين فقط. أى أن هناك اختلاف في درجة الحساسية فضلا عن الاختلاف في وزن الجسم .

9- مقاومة العائل الحشرى للفيروس Host resistance

مازال إنتخاب السلالات تبعا للقاعدة البيولوجية هو نتيجة للإختلافات داخل مجتمع الكائن **Population** والذي يعطي فرصة الإنتخاب بالصدفة.

هذا على الرغم من أن هناك ملاحظات لظهور درجة من المقاومة للفيروس عن طريق إنتخاب يرقات نجت من الاصابة بعد تعرضها لتركيزات من الفيروس. فمثلا هناك حالات أنتخب فيها سلالات من *Pieris brassicae* مقاومة نسبيا لفيروس GV وذلك بمقارنتها بالسلالة الحساسة

للفيروس. ومن ناحية أخرى فهناك دراسات تؤكد عدم ظهور المقاومة للفيروس أو أنها مقاومة وقتية سرعان ما تتراجع، فإنه من المتفق عليه أن مقاومة الحشرات للإصابة بالفيروس مازالت غير مؤكدة ولا تشكل ظاهرة ثابتة وملموسة كما هو الحال في مقاومة الحشرات للكيماويات (هى) انتخاب لسلالات الفيروس أكثر منه سلالات مقاومة من العائل) ومن الجدير بالذكر هو أثر بعض العوامل في مقاومة العائل للإصابة بالفيروس:

9-1- العوامل الخارجية

وأهمها بصفة مؤكدة هو الاختلاف في درجة الحرارة. حيث تلعب درجة الحرارة دورا هاما في نجاح الإصابة أو نسبة نجاح الإصابة مثل:

- يرقات *Colias eurytheme* تظهر درجة من المقاومة للإصابة بالـCPV في ظروف الحرارة العالية 35°م عنها عند 23°م. علما بأن حرارة تثبيط الفيروس هى 85°م مما ينفي تأثير الحرارة المباشرة على الفيروس.
- يرقات *Galleria mellonella* تظهر درجة من المقاومة لفيروس القزحي *Tipula* (iridescent virus (TIV على درجات حرارة أعلى من 30°م عنها عند 23°م.

9-2- العوامل الداخلية

- القناة الهضمية للحشرات مجهزة ببعض الحماية ضد غزو الفيروس. فقد أقترح أن سوائل القناة الهضمية قد يكون لها درجات من التأثير المثبط على الفيروس.
- بالرغم من أن كثير من الفيروسات تتكاثر في الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى إلا أن ذلك لا يؤثر في طبيعة الجدار كحاجز إلى الدم (barrier) بصورة متخصصة بحيث لا يسمح للفيروسات التى لا تغزوه أن تمر خلاله كمرحلة أولية لإصابة العائل (Matta & Lowe 1970).
- في كثير من الحشرات يتميز طور ما قبل العذراء (Pre-pupae) بدرجة من المقاومة المطلقة تقريبا وذلك بالنسبة للاصابة بالفيروسات مثلما وجد في حالة NPV لحشرة *Diprion hercyniae* حيث تبدأ الإصابة بالفيروس في الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى وتلك الخلايا، في طور ما قبل العذراء، تكون خلايا جنينية مؤقتة وليست على ما يبدو حساسة للإصابة. علاوة على أنها تستبدل عند طور العذراء بخلايا هضمية جديدة.

9- 3- الإضافات المنشطة

قد تتغير درجة الحساسية أو تتغير كفاءة الفيروس(Virulence) أو كلاهما بالإضافات المنشطة مثل مواد الحماية من الأشعة الشمسية.... Protective additives محفزات التغذية Feeding stimulants.......... والمواد المضادة للأكسدة Antioxidants.

10- المناعة في الحشرات ضد الفيروسات Immunity

هناك محاولات لإحداث المناعة في الحشرات للفيروسات عن طريق تعريض مستمر لبرقات أجيال متتالية للحشرة وذلك باعطائها جرعات منخفضة من الفيروس (مثال *Malacosoma disstria* NPV). إلا أنه ليس هناك من النتائج ما يشير إلى حدوث المناعة.

ومن الجدير بالذكر أن الحشرات كباقي اللافقاريات ليس لها جهاز مناعي يماثل الفقاريات أى لا تنتج مناعة ذاتية متخصصة (Humoral immunity) بل تقتصر المناعة (مع جواز التعبير) في حدود ما يسمى بالمناعة الخلوية (Cellular immunity) والتى تحدث في اللافقاريات نتيجة رد فعل الخلايا (Cellular response) في الصور الثلاثة الآتية:

- تجمع لخلايا الدم الحره حول الأجسام الغريبة
Phagocytosis by free-floating haemocytes (Circulating haemocytes)
- خلايا متحده في صورة أعضاء للتجمع حول الأجسام الغريبة
Phagocytosis by fixed cells arranged into organs
- تغليف الأجسام الغريبة Encapsulation

هذا وتلعب العوامل البيئية والفسيولوجية والوراثية دورا في المقاومة الخلوية للأجسام الغريبة.

11- تعاقب تواجد الفيروس Perennially

بقاء الفيروس في بيئة الحشرة وأثره في التعداد يتضح من الدراسات البيئية المتاحة و التى تنحصر في أنواع Baculoviruses. و ليس هناك ما يمنع من أن تنطبق الحقائق الآتية على جميع الفيروسات الحشرية مع شئ من التحفظ:

11-1- الفيروس الحشرى عامل مميت (طفيل) يعتمد على الكثافة العددية للعائل (Density dependent mortality factor). فعند ظهور أعداد كبيرة من العائل يتوفر قدر كاف من الفيروس ويكون نتيجة ذلك حدوث إصابة وبائية بالمرض نتيجة طبيعية لإنتشار الفيروس في البيئة Virus Epizootic.

الوبائية و الكثافة العددية

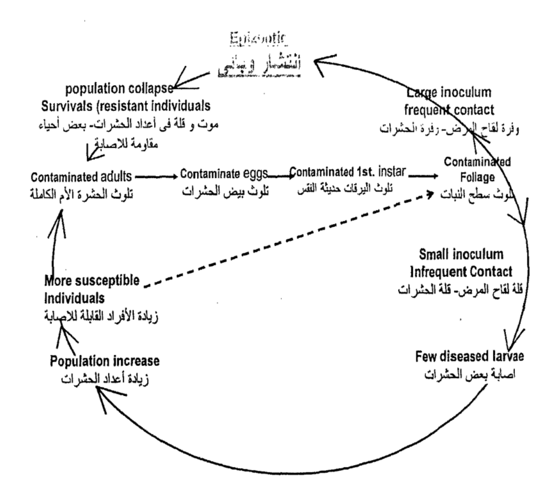
العائل الطفيل ——— – – –



2-11- إنتشار الفيروس في بيئة الحشرة يتأثر بعوامل بيئية متعددة بعضها قد يؤثر بطريق غير مباشر عن طريق التأثير على العائل. وعموما هناك ثلاث عوامل تتحكم في حدوث الوباء المرضى بالفيروس:

- درجة حساسية العائل Susceptibility
- كثافة تعداد الحشرة Population density
- توفر الفيروس في البيئة تحت ظروف بيئية مناسبة.
- سلوك العائل.

نتيجة الإنتشار الوبائى بالفيروس Epizooticينخفض تعداد الحشرة بدرجة كبيرة ومع ذلك تبقى بعض الأفراد الأحياء التى نجت من الإصابة مما لا يؤثر بدرجة ضارة على المفترسات والطفيليات. كما يتضح من الشكل التالى:



12- أهمية الفيروسات في مكافحة الآفات الحشرية

إكتسبت الفيروسات المغلفة عموما أهمية خاصة في مجال إستعمال الفيروس في مكافحة الآفات، وذلك بسبب وجود الغلاف البروتينى الذى يُكسب جزيئات الفيروس حماية زائدة تحت الظروف البيئية المختلفة التى يتعرض لها في الطبيعة، و كذلك ميزة تحضيرها معمليا.

وقد إكتسبت فيروسات الـBaculoviruses (الجرانيولوسيز والنيوكليوبوليهيدروسيز) أهمية أكثر في هذا المجال و ذلك للأسباب الآتية:-

- إنتشارها في كثير من الأنواع الحشرية خصوصا الآفات من رتبة حرشفية الأجنحة Lepidoptera .
- درجة التخصص العالى بينها و بين العائل و التى تصل إلى مستوى النوع الحشرى.

- تعتبر مأمونة الإستعمال من حيث الآثار الجانبية على الإنسان و الحيوان و النبات.
- عدم ظهور السلالات من الحشرات المقاومة لتلك الفيروسات.

و من أهم الإعتبارات عند إستعمال مستحضرات الفيروس في مكافحة الآفات هو قياس ثبات الفيروس و إحتفاظه بنشاطه تحت الظروف الثلاثة الأساسية:-

الظروف الجوية – السطوح النباتية و التربة – المخاليط

12-1- ثبات الفيروس تحت الظروف الجوية

من أهم العوامل المؤثرة على الفيروس في الحقل هو تأثير العوامل الجوية مثل الأمطار الغزيرة التى قد تزيل جزيئات الفيروس من على السطوح النباتية، ثم الأشعة فوق البنفسجية في اشعة الشمس ، ذات الأثر المثبط المباشر على نشاط الفيروس (virus virulence) . أما درجات الحرارة العالية فقد يكون لها تاثير ثانوى غير مباشر و ذلك عن طريق أثرها على السطوح النباتية المعاملة و على العائل.

12-1-1- تأثير الأمطار

يمكن القول بصورة عامة أن أثر الأمطار السالب في إزالة الفيروس من على السطوح النباتية يعتبر قليل ، و يمكن في أغلب الأحيان التغلب عليه. و من ناحية أخرى فهناك أثر موجب للأمطار الغزيرة و التى قد تغسل أجزاء اليرقات المريضة بالفيروس و تعمل على نشرها إلى و من التربة أو من نبات لآخر مما يساعد على نشر الفيروس في بيئة العائل.

12-1-2- ضوء الشمس

أغلب الأثر المثبط على الفيروسات في الطبيعة يرجع إلى الأشعة فوق البنفسجية ((UV في ضوء الشمس المباشر . و بالنسبة للـ UV فإن أغلب التأثير المثبط يرجع إلى الأشعة القريبة (near 3000-3800 A (wavelength و التى تكون0.1% من طاقة الشمس التى تصل إلى الكرة الأرضية ((Solar energy. في تجارب تأثير ضوء الشمس على مستحضرين من البوليهيدرا أحدهما مستحضر نقى و الآخر مستحضر غير نقى، كان التأثير أكثر على المستحضر النقى ، مما يشير إلى أن الشوائب المعتمة في المستحضر غير النقى تعمل على حماية البوليهيدرا من الأشعة فوق البنفسجية القصيرة المثبطة و يقل الأثر المثبط للـ UV كلما زادت طول الموجة.

وبالرغم من أنه وجد عموما أن أقل طول للموجة يصل إلي الأرض من خلال الغلاف الجوى هو 291.5 nm ففي حدود هذه الموجات لازال هناك تأثير مثبط لا يستهان به. كما أنه من الجدير

بالذكر تتسرب بعض الموجات القصيرة بين الحين والحين لأسباب متعددة. بل وقد يكون هناك بعض التأثير من جانب الأشعة المرئية. وعموما ينصح بالآتى عن إستخدام البوليهيدرا في المعاملات الحقلية:-

- المعاملة بالفيروس تفضل بعد غروب الشمس عنها في الصباح المبكر. و هنا يؤخذ في الإعتبار سلوك و نشاط الحشرة الآفة، فمثلا بعض اليرقات تنشط في التغذية ليلا أو نهارا.
- يفضل تلافي درجات الحرارة العالية أعلى من 30 م.
- يراعى في تركيز المحلول الفيروسى ألا يقل عن حد معين (حسب نوع الفيروس و الحشرة الهدف) حتى يوضع في الإعتبار تعويض للفقد الناتج عن إحتمالات التثبيط.

المواد الحامية أو المنشطة Protective additives :-

هناك محاولات لإستخدام مواد حامية للفيروس من تأثير الـUV، وهى في أساسها مواد ملونة أو محببة يشترط فيها عدم التأثير على الفيروس أو أى مؤثرات جانبية مثل:- مسحوق الكاربون، كازين اللبن، المولاس، بعض الصبغات, وهى مواد تساعد على كسر الأشعة UV.........وهناك محاولات أخرى حديثة لتغليف جزيئات البوليهيدرا تغليف كامل (Microencapsulation) بمواد خاملة لا تنفذ منها أشعة الـUV و قد يكتب لهذه الطريقة النجاح، بحيث أن تكون إقتصادية. أما محفزات التغذية ((feeding stimulants فهى تزيد من تغذية العائل مما يزيد من جرعة الفيروس، وبالتالى ضمان زيادة التأثير و الفاعلية, أو تأثير منشط (synergistic) مباشر على الفيروس بحيث يعمل علي حفظ بقاء الفيروس وتأجيل تدهور فعاليته، مثل المركبات الطبيعية والصناعية لمضادات الأكسدة antioxidants)).

وهناك مواد أخري منشطة لفعالية الفيروس عن طريق غير مباشر وهو الفعل السالب علي غشاء غلاف الغذاء Pretrophic membrane في القناة الهضمية الوسطي للحشرة بحيث يساعد ذلك علي سرعة نفاذية وغزو الفيروس لجسم الحشرة.

12-1-3- ثبات الفيروس في التربة

تصل الفيروسات إلى التربة عن طريق أجسام اليرقات المريضة بعد موتها و سقوطها من على النباتات بفعل عوامل التعرية، مثل الرياح والأمطار، أو نتيجة المعاملة بمستحضرات الفيروس على النباتات والتي تصل إلي التربة إيضاً. وتدل كثير من الدراسات على تحرر جزيئات البوليهيدرا في التربة:-

- وجدت جزيئات بوليهيدرا بصورة نشطة على أعماق تصل إلى 15 سم من سطح التربة، إلا أن أعلى تركيز وجد بين 0.1 ، 4-5 سم. و يظل الفيروس نشطا في عينات التربة لشهور عديدة تحت درجة حرارة المعمل.
- تلتصق جزيئات البوليهيدرا بحبيبات التربة، وقد أمكن ملاحظة ذلك بالفحص المباشر بالميكروسكوب الالكتروني (Scanning EM) ، أو عن طريق فحص قطاعات رقيقة في مستحضر التربة.
- الإختبارات الحيوية (Bioassay) لعينات التربة المعاملة تشير إلى بقاء نسبة من البوليهيدرا النشطة لعدة سنين.
- تختلف أنواع الفيروسات في درجة بقائها في التربة ، فمثلا *P. rapae* GV كان أكثر ثباتا في التربة من *T. ni* GV .

و ينتشر الفيروس من التربة إلى النباتات عن طريق سقوط الأمطار أو تلوث أجسام اليرقات و العذارى التي تصل للتربة، ويعتمد هذا الإنتشار إلي حد كبير على سلوك النوع الحشرى.

12-2- ثبات الفيروس على السطوح النباتية Foliage)

ثبات الفيروس على السطوح النباتية له أهمية خاصة لأن : تغذية اليرقات على الأجزاء النباتية الملوثة بالفيروس هو الطريق الرئيسي لوصول الفيروس للحشرة. وكذلك فأن معظم كمية الفيروس المتاحة في الطبيعة موجودة على الأجزاء النباتية حيث توجد أساسا أجسام الحشرات المصابة و الميتة.

و لسوء الحظ فإن قدرة الفيروس على البقاء على السطوح النباتية أقل بكثير عنها في التربة. وتعتبر هذه هي المشكلة الأساسية في إستخدام مستحضرات الفيروس بالمعاملة على النباتات، إذ تتناقص كفاءة الفيروس بسرعة خلال أيام قليلة من المعاملة. و ذلك حيث أن الفيروس على السطوح النباتية أكثر تعرضا لعوامل التثبيط المباشرة و غير المباشرة (وهنا يؤخذ في الإعتبار التركيب الطبيعي للنبات الهدف(Physical structure of the spray target) و التأثير المباشر للسطوح النباتية على الفيروس، مثل تأثير درجة الـ pH في وسط سطح الورقة.

12-3- ثبات الفيروس في المخاليط

- هناك محاولات لعمل طعوم فيروسية لزيادة فعالية وصول الفيروس للعائل. مثال خلط مستحضر NPV *Heliothis* بمستخلص مائي لنباتات الذرة. أوخلط الطعوم الجنسية Sex pheromones بمستحضرات الفيروس لتلويث أجسام الإناث.

- خلط مستحضرات الفيروس مع المبيدات الكيماوية قد يزيد من كفاءة التأثير على الآفة. و يشترط في جميع الحالات عدم التأثير السالب على كفاءة الفيروس في المخاليط.

تمرين
صمم إختبارا لفعالية NPV في عينتين من التربة أخذت في أوقات متباعدة.

13- توحيد مستحضرات الفيروس Standardization

حتى لا تتعرض مستحضرات الفيروس إلى إحتمالات عدم الدقة في إستخدامها أو عدم الثقة في فعاليتها فقد أتفق على أن يمر المستحضر الفيروسي بعدة إختبارات قياسية هامة قبل أن يأخذ صفة المستحضر. ولقد وضعت الإقتراحات الآتية للتوحيد القياسى للفيروسات المستخدمة في مستحضرات للمعاملات الحقلية:-

13-1- كل نوع من الفيروس يجب أن يكون له سجل يحتوى على كل المعلومات منذ أن يتم عزله و تعريفه. و أن يتم تحضيره تبعا للطرق المتفق عليها و تحت ظروف مناسبة تضمن ثباته.

13-2- يختبر المستحضر الفيروسي بطرق موحدة وقياسية على أساس مطابقته لمواصفات محددة وثابتة، و تأخذ المواصفات درجات أو مستويات متفق عليها، مترجمة على اساس وحدات ثابتة في المستحضر. وذلك حتى يتسنى إجراء إختبارات مقارنة بين المستحضرات المختلفة ، وفي أماكن مختلفة.

13-3- قياس كفاءة المستحضر تحسب على أسس من الإختبارات الحيوية الدقيقة على حشرة إختبار محددة وقياسية.

14- اختبارات الأمان للفيروس Safety tests

تجرى إختبارات الأمان للفيروس للتأكد من عدم خطورته في أى صورة في البيئة. و يتم ذلك عادة في إطار خطة طويلة الأجل قبل الإستخدام في المعاملات الحقلية أو التصريح له في مستحضر وتتضمن خطة إختبارات الأمان الآتي:-

تجرى الإختبارات الحيوية التى يستخدم فيها حيوانات مقارنة كالفئران والأرانب والكلاب والقرود والإنسان سواء بالتغذية أو الحقن العضلى والوريدى. ثم مراقبة أى دلائل قريبة أو بعيدة لنشاط الفيروس نتيجة المعاملات المختلفة

(ليس مجرد ردود الأفعال الظاهرية علي العائل تحت الإختبار).

- إختبارات تنمية الفيروس على مزارع الأنسجة من الفقاريات.
- إختبارات لأثر الفيروس الموضعى على الجلد و الأنف و الحنجرة.
- إختبارات أثر الفيروس على الطيور و الأسماك.
- إختبارات اثر الفيروس على النباتات المختلفة.

و لكى يمر مستحضر فيروس واحد خلال تلك الإختبارات يلزم فريق كامل من إخصائي الفيرولوجي يعمل طول الوقت لمدة خمس سنوات. إلا أنه يمكن أن تجري أختبارات الأمان علي التوازي منذ عزل وتعريف أي فيرس.

تمرين

صمم إختبار لتوضيح أثر UV في ضوء الشمس على النشاط والبقاء على السطوح النباتية لفيروس NPV فى مستخلص يرقات مريضة وآخر في مستحضر بوليهيدرا نقى.

رابعا الحشرات كناقلات لفيروسات النبات

1- الحشرات الناقلة Insect vectors

ناقلات الأمراض الفيروسية للنبات تشمل أنواع من الحشرات بجانب أنواع من النيماتودا والأكاروس الناقل للفيروس، وتحتل الحشرات المركز الأول كناقلات لكثرة الأنواع الحشرية الناقلة وكفاءتها في الانتشار وكذلك سلوك التغذية والمعيشة.

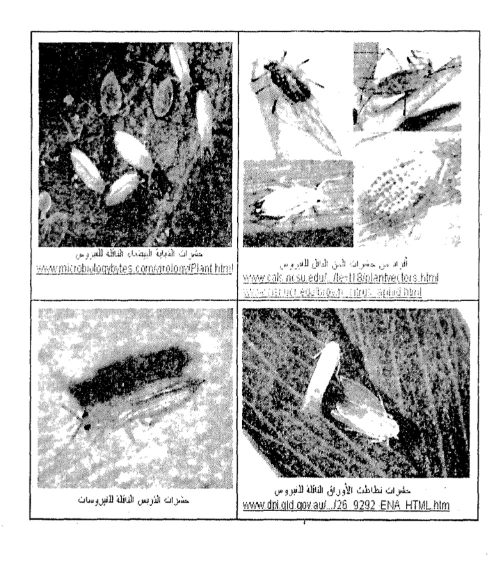
وتتنوع العلاقة بين الناقل والفيروس، فبالرغم من أن هناك ناقلات للفيروس من حشرات غمدية الأجنحة ذات أجزاء الفم القارضة إلا أن المجاميع الهامة كناقلات هى الحشرات التى تتغذى بامتصاص عصارة النبات التى يسرى فيها الفيروس. ويمكن القول أن رتبة متشابهة الأجنحة Homoptera تتضمن الغالبية العظمى من الناقلات وبالرغم من وجود ناقلات من البق الدقيقى والذباب الأبيض، إلا أن مجموعتى المن Sternorrhyncha ونطاطات الأوراق والنباتات Auchenorrhyncha هما الأساسيتان من حيث أعداد الناقلات وأهميتها الاقتصادية، بجانب توفر جميع أنظمة العلاقة بين الناقل والفيروس.

والمن يأتى في المرتبة الأولى كناقلات من حيث عدد الأنواع التى تعمل كناقلات (Vectors) ويليه نطاطات الأوراق. كذلك تتميز مجموعة المن بتواجد جميع أنظمة النقل المختلفة فتشمل فيروسات غير باقية وفيروسات نصف باقية وفيروسات باقية، في حين أن الفيروسات التى تنقلها نطاطات الأوراق هى حتى الآن جميعها من النوع الباقى فيما عدا فيرس واحد يحتمل أن يكون نصف باق وتنقله نطاطات الأوراق و هو (Rice Tungro disease).

2- نقل الفيروس Virus transmission by vectors

تنقل الحشرة الناقلة (Insect vector) الفيروس من نبات مصاب به إلي نبات آخر سليم عن طريق مرحلتى تغذية على العصارة النباتية الأولى تغذية على عصارة النبات المصاب لإكتساب الفيروس (acquisition) والثانية على النبات السليم لتلقيح أو تطعيم الفيروس به (inoculation). فالنبات المصاب (infected plant) هو النبات مصدر الفيروس (source plant) والنبات السليم (healthy plant) هو نبات لاختبار النقل (test plant) أو دليل حدوث النقل (indicator plant).

والحشرة قبل الاكتساب غير حاملة للفيروس (non-viruliferous) وبعد الاكتساب هي حاملة للفيروس أو معدية به (Viruliferous) . ويحمل الناقل (vector) الفيروس في مكان متخصص (Virus site of retention) وتقوم الحشرة بنقل الفيروس عن طريق زيارتها المنتظمة لنبات مصاب (مصدر للفيروس) وآخر سليم (حساس للفيروس).

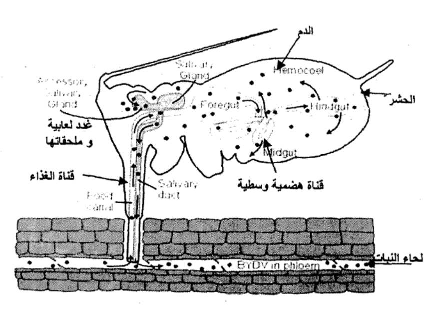


أفراد من حشرات المن الناقل للفيروس
www.cals.ncsu.edu/.../ent18/plantvectors.html

حشرات الذبابة البيضاء الناقلة للفيروس
www.microbiologybytes.com/virology/Plant.html

حشرات نطاطات الأوراق الناقلة للفيروس
www.dpi.qld.gov.au/.../26_9292_ENA_HTML.htm

حشرات التربس الناقلة للفيروسات



ميكانيكية التغذية على نسيج النبات و نقل الفيروس بواسطة الحشرة

2-1- مراحل النقل ((Transmission steps :

2-1-1- فترة الاكتساب للفيروس: Acquisition time

هى الفترة من الوقت التى تتعرض فيها الحشرة غير الحاملة للفيروس للنبات مصدر الفيروس ثم تصبح بعدها حاملة له (viruliferous). وليس بالضرورة أن تتغذى الحشرة تغذية مستمرة طول فترة التعرض، وبالتالى فتسمى فترة التعرض للاكتساب Acquisition AAT (access time) أما إذا لوحظت الحشرة أثناء التعرض للنبات المصدر وحسبت فقط فترات التغذية الفعلية خلال التعرض فتلك هى فترة تغذية الاكتساب (Acquisition feeding time) AFT.

أقل فترة إكتساب للفيروس Minimum acquisition time

هى أقل فترة تعرض أو تغذية على النبات مصدر الفيروس التى عندها يصبح فرد واحد على الأقل من الحشرة تحت الاختبار معديا. وفي هذه الحالة يلزم تكرار محاولة الاختبار لفترات إكتساب قصيرة قبل تحديد الحد الأدنى لفترة الإكتساب.

أما أقصى (Maximum) فترة اكتساب هى التى عندها تصبح جميع الأفراد معدية بالفيروس، والتى بعدها أى زيادة في فترة الاكتساب لا يصحبها زيادة في كفاءة النقل.

2-1-2- فترة التطعيم أو تلقيح الفيروس Inoculation time

و هى الفترة من الوقت التى تتعرض فيها الحشرة المعدية (Viruliferous) لنباتات الاختبار دليل الفيروس (Indicator plant) فيتم تلقيحه بالفيروس وتظهر الاصابة (Infection) به فيما بعد وأيضا هى إما فترة تعرض للتلقيح (Inoculation access time) أو فترة تغذية فعلية. كذلك يمكن حساب أقل فترة تطعيم (سواء تعريض أو تغذية) والتى تسمى (Minimum inoculation time) أو أقصى فترة تلقيح (Maximum).

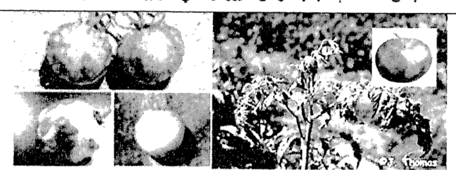
ومن الجدير بالذكر أنه يمكن حساب إحصائيا الفترات المتوسطة لكل من الاكتساب (AT_{50}) وكذلك التلقيح (IT_{50}) .

3-1-2- فترة الاحتفاظ بالفيروس بواسطة الناقل Virus retention by vector

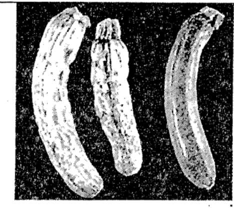
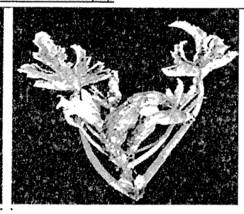
بعد إكتساب الناقل للفيروس يظل محتفظا به لفترة تطول أو تقصر حسب نوع الفيروس تلك هى فترة الاحتفاظ بالفيروس: الفترة من الزمن التى تبدأ بمجرد اكتساب الحشرة للفيروس وتصبح معدية به وتنتهى بمجرد أن تفقد الحشرة الفيروس تماما وتصبح غير معدية (Non-viruliferous). بشرط أن يتم حساب تلك الفترة عمليا عن طريق ما يسمى بالتعريض المتتابع للحشرة المعدية لسلسلة من نباتات الاختبار " Serial successive transfers to new test plant". وذلك بالسماح للحشرة المعدية بالتغذية على أول نبات لفترة معينة ينقل بعدها إلى النبات الثانى لنفس الفترة وهكذا، ثم بملاحظة ظهور الأعراض على النباتات المتتابعة يمكن تقدير مدة الاحتفاظ بالفيروس.

وتختلف الفيروسات النباتية في خصائص وطبيعة النقل (Transmission) التى تبدأ منذ تغذية الناقل على مصدر الفيروس حتى حدوث الإصابة (Infection) على نبات الاختبار السليم. وهذه الأختلافات في طبيعة النقل تمثل خواص الفيروس نفسه وليست من خواص الناقل، فالفيروس الواحد الذى تنقله أنواع حشرية مختلفة ينقل بطبيعة واحدة من النقل (Transmission mechanism). لذلك فالنوع الحشرى الواحد يمكن أن ينقل فيروسات مختلفة ولكن أيضا بطرق مختلفة حسب طبيعة الفيروس نفسه.

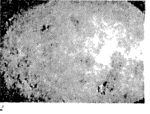
بعض علامات الإصابة بالأمراض الفيروسية التي تنقل بواسطة الحشرات

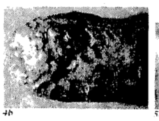


الذبول المتبقع في الطماطم
www.dpvvve.net/intro/index.php

فيروس موزيك القرعيات
www.biologie.uni-hamburg.de/.../e35/symptome.htm


درنات البطاطس المصابة بالفيروسات
www.Vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/photopage

3- أقسام الفيروسات التى تنقلها الحشرات

وتقع الفيروسات عموما من حيث طبيعة نقلها في ثلاث مجموعات:

- فيروسات باقية Persistent viruses
- فيروسات نصف باقية Semi- persistent viruses
- فيروسات غير باقية Non- persistent viruses ومنها ما يتكاثر داخل الحشرة (Propagative).

وعلى ذلك تسمى طبيعة النقل (Transmission mechanism) كما يلي:

- ونقل باقى Persistent Transmission
- نقل نصف باقى Semi- persistent Transmission
- نقل غير باقى non- persistent Transmission

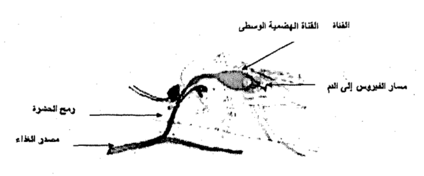
وواضح أن التسمية نشأت من فترة الاحتفاظ بالفيروس بواسطة الناقل Virus retention by vector. وعموما فالحد الأقصى للاحتفاظ بالفيروس (Maximum retention) في المجاميع الثلاثة كالآتى:

- من دقائق معدودة إلى ساعة (غير باق)
- من ساعات إلى يوم أو أيام قليلة (نصف باق)
- من ايام معدودة إلى أسابيع (باق) وقد تستمر طول حياة الحشرة وذلك في حالة الفيروسات التكاثرية (Propagative) بل وقد ينتقل إلى الأجيال التالية للحشرة الناقلة (Transovarial).

وليست تلك النتيجة هى الفرق الوحيد بين مجاميع الفيروسات المختلفة بل أن هناك إختلافات واضحة في جميع مراحل النقل بجانب سلوك الفيروس داخل النبات وداخل الحشرة علاوة على احتمال إختلافات مورفولوجية للفيروس في كل مجموعة.

4- الفيروسات الباقية Persistent viruses

الفيروسات الباقية هى تلك الفيروسات التى مازالت مرتبطة طويلا بالحشرات (العائل الأولى) وهى تلك الفيروسات التى بعد إكتسابها تدخل في دورة داخل جسم الحشرة (Circulative viruses) فتمر من القناة الهضمية إلى الدم ثم الغدد اللعابية وذلك قبل أن تصبح الحشرة قادرة على إحداث العدوى بها. وتظل الحشرة محتفظة بفعاليتها المعدية لفترة طويلة قد تمتد إلى طول حياة الحشرة. ولذلك فإن إنسلاخ جلد الحشرة لا يؤثر على إستمرار حملها للفيروس، فتظل محتفظة به بعد الانسلاخ.



مسار الغذاء (به الفيروس)والممص بواسطة رمح الحشرة

بعض هذه الفيروسات تبدو وأنها فقط تمر في دورة داخل جسم الناقل دون تكاثر بداخله إلا أن هناك البعض ثبت تكاثره داخل جسم الحشرة وتلك يطلق عليها الفيروسات التكاثرية (Propagative viruses) . ومن أسباب صعوبة دراسة أغلب فيروسات هذه المجموعة هو:

- أن هذه الفيروسات تتواجد عموما بتركيز قليل في أنسجة النبات المصاب، وغالبا ما تكون مرتبطة بنسيج خاص عميق في النبات فيصعب الحصول عليها بكميات مناسبة للإختبارات المعملية المباشرة كالفحص الالكترووميكروسكوبي أو إختبارات التغذية الصناعية للمن على الفيروس (Artificial feeding through parafilm membranes) أو بتكنيكات من التكنولوجيا الحيوية للأمصال (Serological tests) ... إلخ.
- عدم قابلية أغلب هذه الفيروسات للإنتقال بالتلقيح بالعصير (Manual inoculation) على دلائل نباتية (Indicator plants) يزيد من صعوبة الاختبارات الحيوية المقارنة (Bioassays) فالقليل جدا مثل (PYDV, CmotV, LNYV, PEMV) يمكن نقلها بالعصير.

وقد ترجع قابلية الانتقال بالعصير إلى وجود الفيروس في الأنسجة السطحية للنبات بجانب وجوده في الأنسجة العميقة. إلا أن تلك القاعدة ليست مطلقة فبالرغم من أن SYVV يصيب بعض الأنسجة السطحية لنبات *Sonchus oleracous* إلا أن جميع المحاولات لنقله بالعصير قد فشلت. ولذلك قد يكون السبب أيضا هو عدم قدرة الفيروس على الثبات في العصير.

4-1- ميكانيكية التغذية في حشرات المن Aphid feeding mechanism ، وعلاقتها باكتساب وتلقيح الفيروس الباقي

تخترق حشرة المن نسيج النبات بواسطة خرطوم يسمى الرمح (Stylet) الذى هو عبارة عن زوجين من الإبر الفكية المتخصصة في إختراق الحزم الوعائية. وإذا كانت الحشرات أساسا تتغذى

على نسيج اللحاء فإن الرمح يخترق أنسجة النبات حتى يصل إلى نسيج اللحاء. وفي حالة نطاطات الأوراق فإن اختراقها أقوى وأسرع من المن. ويختلف المن في الفترة اللازمة للرمح منذ بداية اختراق النبات حتى الوصول إلى نسيج اللحاء باختلاف الأنواع من المن، وعموما فهي تتراوح من دقيقتين إلى خمسة عشر دقيقة كحد أدنى بمعنى أن الرمح يحتاج على الأقل دقيقتين لكي يصل إلى نسيج اللحاء.

وبإختراق الرمح لنسيج النبات يتكون حوله غمد أنبوبي من إفراز اللعاب (Proteinaceous tubes) ويصعب التأكد من وظيفة ذلك الغمد (Stylet sheath) الذي يلاصق الرمح خلال عملية الامتصاص السريعة لعصير النبات. إلا أنه هناك إعتقاد بأنه يدعم الرمح خلال الاختراق والتغذية. ويقال أنه يعمل كمصفاه لمنع تسرب الجزيئات الدقيقة المختلطة بالعصير مثل البكتريا، ويحتمل الفيروسات أيضا. وقد ثبت بتجربة عملية عند تغذية حشرة المن صناعيا على محلول سكرى يحتوى جزيئات كربون (باضافة صبغة الحبر الصيني) فقد لوحظ بالرغم من وصول الصبغة إلى معدة الحشرة إلا أنها لم تنفذ من خلال الغمد. والغمد مفتوح من طرفه البعيد ليمتد خلف نهايته طرف الرمح حرا لبضعة ميكرونز (1/1000من المليمتر) وعندما تقوم الحشرة بسحب الرمح من نسيج النبات، فأنها تترك الغمد في النسيج حتى أنه يمكن الاستدلال على خط سير الرمح عن طريق التثبيت والصبغ السريع لنسيج النبات المتغذى عليه وفحص وجود الأغماد في القطاعات.



2-4- تأثير شحنة الفيروس الباق على كفاءة الحشرة كناقل Virus charge

الشحنة هى كمية الفيروس التي تكتسبها الحشرة أثناء التغذية على النبات مصدر الفيروس (Virus source). فعندما تتغذى الحشرة على نبات مصدر للفيروس فتكتسب شحنة (Virus charge) تزيد كمية هذه الشحنة تدريجيا حتى تصل إلى حد يجعل الحشرة حاملة للفيروس بصورة تصبح معها معدية (Viruliferous) فمن المتبع في حالة الفيروسات التكاثرية أن الحشرة تحتفظ بقدرتها المعدية ثابتة بمجرد أن تصبح معدية (Viruliferous) بحيث أنها تحصل على امداد مستمر

من الفيروس الذى يتكاثر عدده باستمرار داخل جسم الحشرة. وعلى ذلك فليس هناك تأثير على كفاءة الحشرة بزيادة شحنة الفيروس عن الحد الذى تصبح فيه الحشرة معدية عند الحد الأدنى لفترة الاكتساب (mAAT) أما تلك الفيروسات التى لاتتكاثر داخل جسم الحشرة الناقلة فمن المنتظر أن تكون شحنة الفيروس عاملاً مؤثراً على كفاءة الحشرة المعدية وعلى مدة إحتفاظها به في حدود الحد الأقصى لهذا الاحتفاظ (Maximum retention) حسب نوع الفيروس.

4-3- خصائص الفيروسات الباقية:

4-3-1- تزداد قدرة الحشرة على إكتساب الفيروسات الباقية عموما وفعالية نقلها بزيادة فترة التغذية على مصدر الفيروس (Acquisition time) وكذلك بزيادة التغذية على النبات السليم (Inoculation time).

4-3-2- أقل فترة إكتساب للفيروس الباق بواسطة المن (min AT) هى عموما من 2 الى 15 دقيقة وهى الفترة الأدنى لوصول الرمح إلى الأنسجة العميقة في النبات ثم تزداد شحنة الفيروس المكتسب من دقائق إلى ساعات أو حتى أيام حسب الفيروس.

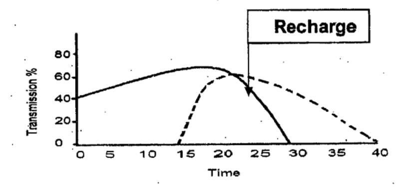
4-3-3- أقل فترة تلقيح للفيروس الباق عموما (min AT)تتراوح ما بين 2 و5 دقائق ويزداد إحتمال حدوث الإصابة في نبات الاختبار بزيادة فترة التلقيح من دقائق إلى ساعات إلى 24 ساعة.

4-3-4- قد ينتقل الفيروس من المن الحامل له إلى الحضنة لجيل أو أكثر فتصبح الحضنة حاملة للفيروس ومعدية به (Transovarial transmission) خصوصا في الفيروسات التكاثرية.

4-3-5- بعض الفيروسات الباقية التى أمكن الحصول عليها معمليا يمكن للناقل إكتسابها عن طريق التغذية الصناعية خلال أغشية صناعية خاصة (Parafilm membrane).

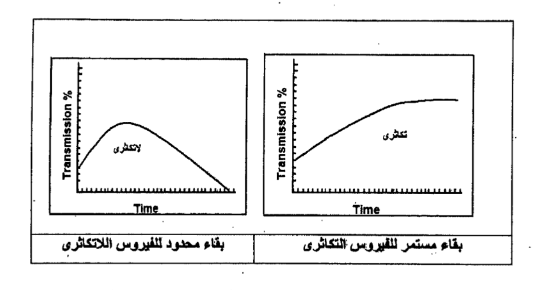
مثال فيروس : Barley yellow dwarf & Beet Western yellows و عدد أيام بقاء الفيروس يدل عليه معدل النقل المتتابع للفيروس

و زيادة البقاء بعدها مقرونا بتغذية اكتساب اضافية ((Recharge كما في الشكل التالي:



وعلى ذلك يمكن تجديد كفاءة النقل لفترة أو تأخير الانخفاض إذا ما أعيد شحن الناقل بالفيروس عن طريق تغذية إكتساب اضافية (Recharge) كما يظهر في الفيروسات اللاتكاثرية. أما بالنسبة للفيروسات التكاثرية فإنه يزداد عدد الأفراد الناقلة التي تصبح معدية بزيادة فترة الإكتساب إلى الحد الذى تصبح فيه كل الأفراد حاملة للفيروس فتتقارب كفاءتها المعدية بصرف النظر عن شحنة الفيروس (Virus charge) وعلى ذلك فمحاولة إعادة الشحن لا يظهر لها أثر. وقد أعتبرت إختبارات كفاءة النقل وشحنة الفيروس في الفيروسات الباقية أسلوب بجانب أساليب أخرى لتميز الفيروسات التكاثرية واللاتكاثرية ودرجة إحتفاظ الحشرة بالفيروس الباق.

من المعروف أن الفيروسات الباقية بعد تغذية إكتساب واحدة تحتفظ بقدرتها على نقل الفيروس لأيام عديدة تختلف بأختلاف نوع الفيروس اللاتكاثرى. أما الفيروسات التكاثرية فمن المتوقع أن تحتفظ بها الحشرة طول حياتها حتى الموت(أنظر الشكل). فعند إجراء هذا النوع من التجارب يظهر الآتى:



4-3-6- في حالة الفيروسات اللاتكاثرية: فعند النقل اليومى على نبات اختبار جديد فان معدل النقل يزداد في الأيام الأولى ثم يقل تدريجيا ويظهر إنخفاض حاد حتى تفقد الحشرة القدرة تماما على النقل. ومن الجدير بالذكر أنه لا يمكن تجاهل عوامل أخرى تتدخل في ظهور هذا الانخفاض وأهمها عمر الحشرة فكلما كبرت الحشرة "المن مثلا" في العمر قلت درجة تغذيتها وبالتالى درجة إخراج الندوة العسلية (Honey dew) خصوصا عند نهاية فترة الولادة. وقد أمكن الربط بين الانخفاض في قدرة حشرات المن على أحداث العدوى وبين درجة إفرازها للندوة العسلية.

4-3-7- في حالة الفيروسات التكاثرية: فيزداد معدل النقل في الأيام الأولى حتى يصل إلى حد ثابت تقريبا والذى بعده لا يحدث إنخفاض نهائى في معدل النقل.

تجارب معملية

1. صمم تجربة معملية لإثبات عدم فقد حشرة ناقلة للفيروس بعد إنسلاخها أخذاً في الاعتبار عدم تعرضها لشحنة من الفيروس
2. صمم اختبار لقياس درجة احتفاظ الحشرة لفيروس من النوع الباق.
3. صمم اختبار للتفرقة بين فيروسين في مصدر نباتى واحد أحدهما لاتكاثرى والأخر تكاثرى ولهما ناقل واحد (نوع من المن).

4-4- مصير الفيروس الباقي بعد دخوله جسم الحشرة

بعد دخول الفيروس الباقي مع غذاء الحشرة يمر من القناة الهضمية الأمامية ثم الوسطى (Foregut & Midgut) ثم يتسرب خلال جدار الوسطى إلى دم الحشرة ومن الدم إلى الغدد اللعابية حيث منها يمكن تلقيحه عند أى تغذية تلقيح للحشرة. وقد وجد أن الحشرة لا تستفيد بكل شحنة الفيروس المكتسب بل بعض الفيروس ينفذ مباشرة خلال قنّاة الغذاء ويخرج مع إفرازات الحشرة. فقد وجد مثلا كمية من فيرس PEMV في إفرازات حشرة المن الناقل بعد 90 دقيقة من إكتسابها للفيروس، كما تحتوى الندوة العسلية أيضا على بعض الفيروس. ويبدو أن السبب في ذلك أنه بتغذية الحشرة المعدية على عصير نبات سليم فان العصارة النباتية المندفعة داخل قناة الغذاء تطرد بعض الفيروس الموجود في القناة الهضمية. ويفسر ذلك بأن تجويع المن بعد الاكتساب-Post acquisition starvation يزيد من فرصة إمتصاص الفيروسات من القناة الهضمية إلى الدم

الذى يعتبر المخزن الرئيسى للفيروس في حين أن التغذية مباشرة على نبات سليم تفقد جزء من الفيروس مع إخراج الحشرة ففي تجارب 1970 Ponsen على الفيروس PLRV كانت كفاءة الأفراد التى تعرضت لهذا التجويع 70% قدرة معدية في حين أن الأفراد التى تغذت مباشرة كانت فعاليتها 10% قدرة معدية. وذلك أن التجويع زاد الشحنة من الفيروس التى تصل إلى الدم ثم الغدد اللعابية للحشرة. وعلى ذلك ظهرت فكرة فترة الاكتساب الفعلية (The actual acquisition time) على اعتبار أن تلك الفترة لا تبدأ فقط عند دخول الفيروس إلى القناة الهضمية للحشرة بل بالتحديد منذ بداية إنتقال الفيروس من القناة الهضمية إلى الدم. كذلك الحال في فيروس التقزم الأصفر في الشعير (BYDV) بواسطة المن النال. فعند فحص تركيز الفيروس داخل القناة الهضمية للحشرة بعد إكتسابه (من) النبات مصدر الفيروس). فإن في الـ24 ساعة الأولى كان تركيز الفيروس في القناة الهضمية ثابتا تقريبا ثم بعدها أخذ يقل تدريجيا حتى وصل إلى أقل تركيز بعد 4 أيام وعلى ذلك فإن فترة الإكتساب الكلية تفوق تغذية الإكتساب إلى فترة مرور الفيروس من القناة الهضمية تدريجيا إلى الدم حتى تخلوا القناة الهضمية تماما من الفيروس.

4-5- التسرب غير المتخصص داخل جسم الحشرات الناقلة لفيروسات غير قابلة للنقل Non-specific ingestion

الفيروسات التى لا تنقل إطلاقا بواسطة الحشرات من الممكن أن تمر خلال القناة الهضمية مع الغذاء ولكن الحشرة لا تصبح معدية بها مثال ما يحدث لفيروس TYMV) Turnip yellow mosaic virus) حيث يتسرب داخل النال *Hyadaphis brassicae* وكانت هناك كمية كبيرة من الفيروس بقيت في القناة الهضمية لعدة أيام. ويفسر ذلك بأن تسرب الفيروس خلال الفم، في هذه الحالة هو تسرب غير متخصص. ويعتقد أن جدار القناة الهضمية للحشرة هو أول خط حاجز First barrier يتحكم في نفاذية أو عدم نفاذية الفيروسات إلى الدم فهو بالتالى حاجز متخصص (Specific barrier) إلا أن هناك أيضا عوامل أخرى تمنع التسرب المتخصص خلال كل الأعضاء التى يمر بها الفيروس داخل جسم الحشرة.

4-6- فترة الحضانة (فترة الكمون) (Incubation period (Latent period

فترة الحضانة من أهم خصائص الفيروسات الباقية سواء كانت تكاثرية أو لاتكاثرية وهى الفترة من الوقت التى تقضيها الحشرة الناقلة بعد اكتسابها للفيروس حتى تصبح معدية به. بمعنى أنه إذا أجريت تجربة تغذية تلقيح بعد الاكتساب مباشرة لفترات مختلفة (ساعة - يوم) يمكن تقدير الفترة

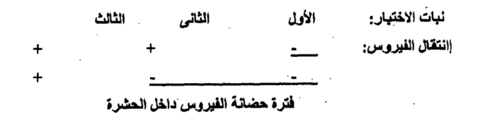
اللازمة لحضانة الفيروس. وتفسير ذلك كان موضوعا للمناقشة بين كثير من الباحثين إذ حاولوا تحديد طريقة قياس لهذه الفترة على أن تكون مقياس ثابت (standard) للمقارنة بين الفيروسات المختلفة.

فمنذ البداية عرفت فترة الحضانة حيث عبر عنها بالوقت اللازم لجزيئات الفيروس الفعالة حتى تمر من الفم إلى القناة الهضمية ثم الدم ثم الغدد اللعابية بكميات كافية لإحداث العدوى عند تغذية الحشرة على أول نبات سليم.

4-6-1- أقل فترة حضانة Minimum latent period

من الواضح أن هذا التعريف قد عبر بصفة خاصة عن أقل فترة للكمون (Minimum) إلا أن ذلك التحديد لا يمكن الاعتماد عليه في بعض الحالات، فتحت الظروف التجريبية يستحيل أحيانا ملاحظة أقل فترة كمون، خصوصا في الفيروسات ذات فترة الحضانة القصيرة، والتى قد تقل عن مجموع فترتي الاكتساب والتلقيح. تلك الظروف التى واجهت دراسة فترة الحضانة في فيروسات PLRV& PEMV& BYDV. فغالبا ما يلزم لكفاءة نقل هذه الفيروسات تغذية إكتساب تطول إلى 24 ساعة على النبات مصدر الفيروس ثم بعد ذلك تغذية تلقيح على النبات السليم للاختبار حوالي 24 ساعة أخرى . ونتيجة ذلك أن بعض الحشرات تنجح في إحداث إصابة على نبات الاختبار الأول. وتزداد بعد ذلك كفاءة النقل على النبات الثانى كما يلي:

24 ساعة تغذية تلقيح على نبات الأختبار:.



نبات الاختبار:	الأول	الثاني	الثالث
انتقال الفيروس:	-	+	+
	-	-	+

فترة حضانة الفيروس داخل الحشرة

4-6-2- فترة الحضانة القصوى Maximum latent period

فترة الحضانة يمكن التعبير عنها بصورة أدق عمليا كأقصى فترة حضانة (max LP) كالآتى:
هى الفترة منذ إكتساب الفيروس حتى تستطيع الحشرات الحاملة له أن تسبب أقصى درجة من الإصابة عند تعريضها إلى نباتات الاختبار (أقصى معدل لنجاح النقل بين الأفراد المعدية).

إلا أن ذلك الاقتراح أيضا لا يحل مشكلة تحديد فترة الحضانة للفيروسات المختلفة حيث يصعب تحديد تدخل عوامل أخرى قد تتدخل في كل تجربة والتى سببها الاختلافات الفردية بين أفراد المن وظروف إجراء التجارب بواسطة باحثون مختلفون.

4-6-3- فترة الحضانة المتوسطة LP_{50}

وعلى ذلك كان إستخدام مقياس إحصائى لفترة الحضانة المتوسطة LP_{50} والتى هى الفترة من الزمن بين اكتساب افراد الحشرات الناقلة للفيروس وحتى يستطيع 50% من تلك الأفراد الحاملة للفيروس (Viruliferous) إحداث الإصابة على نبات الاختبار. ومع ملاحظة أن تحسب هذه النسبة تجريبيا على أساس عدد الأفراد فقط الحاملة للفيروس.

و العوامل التى تؤثر على LP_{50} هي:

- فترة الاكتساب (AFT) :

من الواضح أن فترة الاكتساب المستخدمة في التجربة تؤثر على شحنة الفيروس من ناحية ثم من ناحية أخرى في حالة إطالة مدة تعرض الحشرة للنبات المصدر للفيروس فقد تبدأ فترة الحضانة بينما مازالت الحشرة معرضة للاكتساب. وعلى ذلك فلحساب فترة الكمون على درجة من الدقة يجب الاعتماد على أقل فترة إكتساب ممكنة تتعرض لها الحشرات تحت الاختبار وعموما تقدير الـ LP_{50} يكون عادة مقرونا بفترة الاكتساب تحت الاختبار.

- درجة الحرارة:

في حدود معينة تتأثر الـLP_{50} بدرجات الحرارة وعموما تقصر فترة الحضانة بارتفاع درجات الحرارة وتطول في درجات الحرارة المنخفضة فمثلا بالنسبة لـ LP_{50} لفيروس PEMV كانت LP_{50} تحت درجات حرارة مختلفة كالآتى:

Temp	:	10°C	20	30°C
LP50	:	70min	2h	14 h

4-6-4- تفسير ظاهرة فترة الحضانة LP في الفيروسات الباقية:

تعزى فترة الحضانة إلى واحد أو أكثر من ثلاث فروض وضعت لتفسير الظاهرة:

- هى الفترة اللازمة لمرور الفيروس في دورته داخل جسم الحشرة بعد اكتسابه خلال الفم ومنه إلى القناة الهضمية ثم الدم ومنه إلى الغدد اللعابية بتركيز مناسب يسمح للحشرة بحقنه أثناء التغذية على نبات سليم.
- هى الفترة اللازمة لتكاثر الفيروس التكاثرى وزيادة تركيزه إلى الحد المناسب لاحداث الاصابة به عند حقنة بواسطة الحشرة.
- عند إنتقال الفيروس من الوسط النباتى إلى الوسط داخل جسم الحشرة قد يمر بفترة كمون يستعيد بعدها نشاطه العادى.

وقد دعت الأسباب الأتية إلى تلك الفروض:

فبالنسبة للفرض الأول يمكن الاستدلال عليه باختبارات تتبع تركيز الفيروس في القناة الهضمية للمن وربطه بتركيزه في الدم وطول فترة الحضانة. ومن التجارب التى تشير إلى إرتباط فترة الحضانة بانتقال الفيروس في دورته داخل جسم الناقل، أن اكتساب الحشرة للفيروس مباشرة عن طريق حقنه في الدم (Inter-haemocoel) تعمل على قصر فترة الحضانة لتلك الفيروس عما إذا إكتسب عن طريق التغذية على نبات مصدر الفيروس. فقصر فترة الحضانة في حالة الحقن في الدم قد يرجع إلى توفير الوقت اللازم للفيروس للوصول إلى الدم وبمجرد إكتساب الحشرة للفيروس من النبات المصاب يمكن تتبع تركيز الفيروس في القناة الهضمية عن طريق تكنيك الامصال الدقيق (Fluorescent antibody technique) على مدى فترة الحضانة بحيث تظهر علاقة بين تناقص التركيز في القناة الهضمية تدريجيا مع إقتراب نهاية مدة الحضانة ثم بعدها ينعدم الفيروس في القناة الهضمية.

بالنسبة للفرض الثانى يستدل عليه من الاختلاف الواضح في طول فترة الحضانة بين الفيروسات التكاثرية واللاتكاثرية فالفيروسات التكاثرية مثل فيروسات LNYV & SYVV فكلاهما له فترة حضانة لا تقل عن 8 أيام، فإن الدراسات الهستولوجية لأنسجة الفيروس داخل ناقله الحشرى إقتصرت على الفيروسات التى تتكاثر داخل جسم الحشرة، وذلك لصعوبة التعرف على الفيروس في الأنسجة بدون وجوده بكميات مناسبة. وبالرغم من ذلك فمازالت هناك فيروسات تكاثرية لا يسهل التعرف عليها، مقارنة بالفيروسات اللاتكاثرية عموما والتى جميع تقديراتها لفترة الحضانة تصل في قصرها من عدة ساعات إلى 24 ساعة ولا تتعد 48 ساعة.

أما الفرض الثالث فالبرغم من صعوبة إثباته عمليا إلا أنه احتمال لا يمكن تجاهل حدوثه سواء كان الفيروس تكاثرى أو لا تكاثرى.

4-7- السلوك البيولوجي للفيروس الباقي داخل جسم الناقل

The virus inside the vector

4-7-1- الفيروسات التكاثرية Propagative viruses

لوحظت الفيروسات التكاثرية منتشرة في معظم أنسجة الحشرة الناقلة بما فيها القناة الهضمية (مثال فيرس تقزم الأرز داخل ناقله من نطاطات الأوراق). وفي حالات أخرى قد يتكاثر الفيروس في بعض الأنسجة ويتواجد في أنسجة أخرى بدون تكاثر. ولقد لوحظت تلك الفيروسات في السيتوبلازم من خلايا الجسم الدهنى والمخ والعضلات والقصبات الهوائية والميستوم وكذلك الجلد epidermis والغدد اللعابية والقناة الهضمية للحشرات الناقلة. كما لوحظت فيروسات أخرى في نواة الخلايا مثال فيرس SYVV وناقله *Hypermyzus luctacae* .

4-7-2- الفيروسات اللاتكاثرية Non- propagative viruses

بالنسبة للفيروسات اللاتكاثرية التي ينقلها المن فقد نالها حتى الآن قسط أقل من الدراسة من حيث السلوك البيولوجي للفيروس داخل جسم الحشرة. وعموما فمن الثابت وجود هذه الفيروسات في دم Haemolymph الناقل. وقد شوهدت جزيئات PEMV في سيتوبلازم خلايا الجسم الدهنى. كذلك جزيئات BYDV شوهدت في نسيج القناة الهضمية للمن الناقل.

4-8- دلائل تكاثر الفيروس داخل الناقل Evidence for virus multiplication

زيادة عدد جزيئات الفيروس النشط داخل جسم الحشرة بعد إنتهاء فترة تعرضها للاكتساب هى دليل على تكاثره وهذا يمكن الحصول عليه بطرق مختلفة كما يلي:-

4-8-1- طريقة النقل المتتابع للدم: Serial heamolymph transfer

والتى فيها يتم إجراء درجات عالية من التخفيف لدم الحشرة المحتوى على الفيروس عن طريق سحب دم من حشرة معدية وحقنه في حشرة غير حاملة، ثم نقل دم الأخيرة إلى مجموعة متتابعة من الأفراد غير الحاملة للفيروس. وذلك في سلسلة متزايدة من التخفيفات للدم المحتوى على الفيروس. وباختبار فعالية مجموعات الأفراد في السلسلة المتتابعة يمكن الوصول إلى نقطة التخفيف النهائية (Dilution end point) والتى عندها تفقد الحشرة القدرة على نقل الفيروس. أما في حالة ما إذا كان الفيروس يتكاثر داخل جسم الناقل، فإنه لا يظهر حد نهائى للتخفيف. وتفسير ذلك أنه عند تلك التخفيفات يستحيل على الفيروس إحداث العدوى إلا إذا كان له القدرة على التكاثر داخل جسم الحشرة. وقد طبقت تلك الطريقة لإثبات تكاثر فيرس SYVV داخل المن الناقل (تبدأ بنقل دم يحتوى 10

جزئ فيرسي وإنتهي بتخفيف 70 ضعف خلال 6 مجموعات متتابعة من المن غير الحامل للفيروس).

ومن الجدير بالذكر أن إستخدام هذا التكنيك يلزمه إحتياطات وقاية عالية لتلافي التلوث والخطأ حتى يمكن الاعتماد على النتائج في تقرير ما إذا كان الفيروس تكاثرى أولا. وذلك كما يلي:

- تغذية الحشرات المحقونة على نباتات منيع للفيروس لضمان سلسلة التخفيف وعدم زيادة شحنة الفيروس.
- ضمان الوقت اللازم لاعطاء فرص كافية لإنتقال الفيروس بكميات كبيرة إلى الدم حتى يمكن الحصول عليه عند سحب الدم في بدء التجربة.

4-8-2- إنتقال الفيروس عن طريق البيض من جيل إلى آخر

Transovarial passage of virus from one generation to another

يمكن تتبع عدد من الأجيال المتتالية للفرد الحشرى الحامل للفيروس حتى يمكن الوصول إلى تخفيفات متزايدة من الفيروس، ثم باختبار فعالية الأجيال المتتابعة يمكن بنفس الطريقة السابقة استنتاج ما إذا كان الفيروس يتكاثر داخل جسم الحشرة. وذلك بشرط التغذية على نباتات منيعة للفيروس حتى يقتصر التتابع على شحنة الفيروس الأولية.

ويلاحظ أن انتقال الفيروس عن طريق البيض ليس دليلا في حد ذاته على التكاثر داخل الناقل الحشرى حيث أن تسرب الفيروس إلى أنسجة المبيض مثله كمثل أية أنسجة أخرى للناقل الحشرى قد يتسرب إليها الفيروس. وعلى الرغم من ذلك فإن من الملاحظ فعلا أن ظاهرة إنتقال الفيروس خلال بيض الحشرة منتشرة بين الفيروسات التكاثرية وتكاد تكون معدومة في الفيروسات اللاتكاثرية. و لذلك فالانتقال للفيروس عن طريق بيض الناقل يكاد يشير الى أن الفيروس تكاثرى.

4-8-3- طريقة زراعة الأنسجة Tissue culture technique

ثبت تكاثر فيروس SYVV داخل المن الناقل عن طريق تلقيح مزارع أولية من خلايا أنسجة الحشرة بوحدات قليلة من الفيروس ثم تتبع ما إذا زاد تركيز الفيروس مع نمو وزيادة خلايا النسيج المزروع. ويختبر تركيز الفيروس داخل خلايا النسيج بواسطة تكنيك الامصال الدقيق (Fluorescent antibody technique).

4-9- التخصص في نقل الفيروسات الباقية

تتميز الفيروسات الباقية عموما بدرجات عالية من التخصص بالنسبة للأنواع الحشرية التى تنقلها. وتظهر أعلى درجات التخصص في الفيروسات التكاثرية والتى تقتصر على نقلها أنواع نطاطات الأوراق ونطاطات النبات وفيما يلى درجات التخصص المختلفة وأمثلة لها:

4-9-1- تخصص النوع:

الذي فيه يتخصص نوع واحد من الحشرة أو نوعان متقاربان أو أكثر في نقل الفيروس الواحد.

CMotV و الناقل حشرة المن *Cavariella aegopodii*

PLRV " " " *Macrosiphum euphorbiae Myzus persicee*,

4-9-2- التخصص داخل سلالات النوع الواحد من المن: وفيه تتميز سلالة strain معينة من نوع المن في كفاءتها العالية في نقل الفيروس, فمثلاً سلالتين من المن *Acyrthosiphum pisum* فى حين فشلت السلالة الأولى في نقل فيروس البسلة PEMV فإن السلالة الثانية كانت عالية الكفاءة في نقل الفيروس.

4-9-3- التخصص داخل سلالات الفيروس الواحد : وفيه السلالات المختلفة من الفيروس الواحد virus strains يتخصص في نقل كل منها نوع معين من المن مثال السلالتين RPV& MAV من فيروس الشعير BYDV وجد أن النوع من المن *Rhopalosiphum padi* ينقل بكفاءة عالية السلالة RPV بينما نادرا ما ينقل السلالة MAV في حين أن النوع الآخر من المن *Macrosiphum avenue* له القدرة على نقل كلتا السلالتين بكفاءة عالية.

4-9-4- تفسير الدرجات العالية من التخصص إلى أسباب متعددة

- الاختلاف في طبيعة ودرجة نفاذية جدار القناة الهضمية للناقل وعلاقة ذلك بدرجة نفاذية الفيروسات المختلفة. وبالتالى درجة نجاحها إلى المرور في دورتها داخل جسم الحشرة. إلا أنه بالرغم من تسرب الفيروس إلى معدة عدة أنواع من المن خلال التغذية على نبات مصاب إلا أن الفيروس يتم دورته إلى الدم في نوع الحشرة الناقلة فقط. بينما في الأنواع غير الناقلة فالفيروس يمر مباشرة مع إخراج البراز.
- قد يمر الفيروس من جدار القناة الهضمية إلى دم الحشرة وبالرغم من ذلك فلا يستطيع هذا النوع نقل الفيروس إلى النبات السليم وفي هذه الحالة حاجز التخصص يتمثل في الغدد اللعابية للحشرة.

- في حالة الفيروسات التى تعتمد في نقلها على فيروسات أخرى في الحالة المسماه بالنقل المعتمد (Dependant transmission) والتى سيأتى ذكرها فيما بعد، فان التخصص غير المباشر بين الحشرة الناقلة و الفيروس المعتمد (Dependent virus) هى محصلة تفاعل interaction بين الفيروس المعتمد والفيروس المساعد (Helper virus) داخل نسيج النبات المصاب بهما.

ويتضح من ذلك أن هناك نوع من التوافق أو عدم التوافق بين جزيء الفيروس والحواجز المختلفة داخل جسم الحشرة. و يرجع ذلك بصفة خاصة إلى الاختلافات الدقيقة جدا في شكل وتركيب الغلاف البروتينى لجزىء الفيروس(Virus coat protein).

5-الفيروسات غير الباقية Non- Persistent Viruses

المرحلة المتقدمة من العلاقة بين الفيروس و الحشرة فيها يقل الارتباط الزمنى للفيروس بالحشرة و تتسع دائرة العوائل للفيروس:

- علاقة زمنية قصيرة، حيث زادت درجة كفاءة البقاء للفيروس خارج الحشرة.
- لا يقتصر فيها نقل الفيروس على أنواع محدودة من الحشرات، بل عديدة.
- ينقل الفيروس بطرق أخرى بجانب الحشرات
- للفيروس درجة ثبات عالية خارج النسيج.. و مدى واسع من العوائل النباتية.

تقتصر الفيروسات غير الباقية في نقلها – على حشرات المن- وتتميز تلك الفيروسات باكتساب الحشرة الناقلة السريع للفيروس وأيضا فقدها السريع له. وهذا الارتباط القصير المدى بين الحشرة والفيروس كان سببا في البداية للإعتقاد بأن النقل يتم عن طريق مجرد تلوث أجزاء الفم أو الجسم بالفيروس أثناء التغذية على النبات المصاب وبنفس الصدفة يتسرب الفيروس إلى النبات السليم اثناء التغذية عليه. ومن هنا نشأت فكرة تسمية هذه الفيروسات بالمحمولة على الإبر الفكية Stylet-borne . إلا أن ذلك التعبير الأخير كان يستعمل للاستدلال على أن هذه الفيروسات مجرد تلوث للرمح Stylet – contamination مما أدى إلى تفضيل إستخدام التعبير Non-persistent خصوصا بعد التأكد من درجات التخصص بين الفيروس والناقل الحشرى، علاوة على أن بعض الفيروسات النباتية ليس لها نواقل حشرية أو ليس لها علاقات متخصصة مع نواقل حشرية أو غير حشرية. وعلى ذلك فهى مرحلة متقدمة من العلاقة بين الفيروس والحشرة العائل الأولى له.

والاعتقاد السائد أنه هناك نوع من التوافق (Compatibility) بين جزيء الفيروس وبين مكان الإحتفاظ به بواسطة الناقل site of retention

5-1- خصائص النقل غير الباقي Non- persistent transmission

- يكتسب الفيروس خلال فترة تغذية قصيرة جدا (ثوان - دقائق) أى وخزات قصيرة (Brief probes) لرمح الحشرة داخل نسيج النبات.
- تفقد الحشرة الناقلة الفيروس المكتسب بالإنسلاخ، بحيث أن الفيروس لا يمر خلال الانسلاخ ecdycis.
- يلقح الفيروس خلال تغذية تلقيح قصيرة أيضا
- تحتفظ الحشرة بالفيروس لفترة قصيرة أقصاها ساعة.
- إحتفاظ الحشرة بالفيروس يقل كلما تعرضت الحشرة للتغذية عنه إذا ما لم تتغذى، أى أن التجويع بعد الإكتساب Post- acquisition starvation يطيل نسبيا من فترة الاحتفاظ بالفيروس. وتفسير ذلك أن التغذية مصحوبة بافراز اللعاب الذى قد يحتوى على مثبطات للفيروس.

5-2- العلاقة بين الفيروس غير الباق وإختراق رمح المن لنسيج النبات:

بالرغم من أن جميع أنواع المن تتشابه عموما في ميكانيكية الإختراق إلا أن هناك بعض الإختلافات الطفيفة نسبيا بين الأنواع والتى قد يكون لها أهمية نوعية في كفاءة نقل الفيروسات. فمثلا بعض أنواع المن يحتوى لعابها على أنزيم الـ Pectinase، ودرجة توفر هذا الأنزيم لها علاقة بكفاءة إختراق الرمح بين الخلايا النباتية (intercellular) غير الإختراق داخل الخلايا (intracellular) حيث يساعد الانزيم على إذابة الجدار الوسطى بين الخلايا (middle lamella). وبالرغم من أن جميع أنواع المن تستهدف التغذية على نسيج اللحاء، إلا أن الأنواع المختلفة قد تختلف فيما بينها في الوقت اللازم لتعمق الرمح ووصوله إلى نسيج اللحاء، فيتراوح من دقيقتين إلى 15 دقيقة تغذية.

5-3- علاقة التجويع قبل الاكتساب بكفاءة نقل الفيروسات غير الباقية

تجويع حشرات المن الناقلة قبل الاكتساب Pre–acquisition starvation يزيد عموما من كفاءة اكتساب ونقل الفيروسات غير الباقية ويعزى ذلك إلى الأسباب الأتية:

- الحشرات بعد التجويع تلجأ إلى إحداث وخزات قصيرة سطحية في النبات brief probes بدون افرازات لعابية والتى لا يتعدى فيها الرمح نسيج الابيديرمز epidermis.
- الفيروسات غير الباقية عموما توجد بتركيزات مناسبة ومتاحة للإكتساب بصفة خاصة في الأنسجة السطحية للنبات.

- حشرات المن عند رفعها من على نبات التغذية المرباه عليه لكى توضع على النبات مصدر الفيروس. فان سحب أجزاء الفم بعد تغذية طويلة يلزم بعده للحشرة بعض الوقت لكى تعيد فيه ترتيب أجزاء الفم في الجراب (الشفة السفلى) في الوضع الصحيح لمعاودة التغذية بحيث يأخذ الرمح الوضع المناسب للثقب، والتجويع يعطى الحشرة تلك الفرصة وهذا ما يطلق عليه Stylet re- ensheathment.

4-5- نظرية الحاجز اللعابي المانع لإكتساب الفيروسات غير الباقية Salivary plug concept

عدم توفر أو إتاحة الفيروس في الخلايا العميقة للنبات ليس تعميما مطلقا بمعنى أن هناك فيروسات غير باقية مثل فيروس موزيك القرعيات (CMV) يمكن للمن الناقل إكتسابه تجريبيا من خلال الميزوفيل العميقة، وقد أمكن إثبات ذلك عمليا بنزع (سلخ) طبقة الـepidermis قبل تعريض الورقة المصابة لحشرة المن. وعلى ذلك فان ضعف كفاءة نقل الفيروسات غير الباقية عند إطالة التغذية وتعمق الرمح يرجع إلى أحد أو كل الأسباب الآتية:

- إما إنعدام توفر الفيروس في الخلايا العميقة.
- أو تغيير في سلوك التغذية وإفراز اللعاب عند تعمق رمح المن في نسيج النبات مما لا يتوافق مع الفيروس نتيجة الحاجز اللعابى. فكلما تعمق رمح حشرة المن في نسيج النبات زاد إفراز اللعاب الجيلاتينى الذى يتصلب وبالتالى يزداد طول وصلابة الغمد (stylet sheath) وعند سحب الرمح من النسيج تاركا الغمد فان حركة السحب تؤدى إلى إزالة الفيروس العالق بالرمح عن طريق الاحتكاك بالغمد الملاصق للرمح (salivary plug). وعلى ذلك فان زيادة تعمق الرمح وتكوين الغمد يزيد من فرصة إزالة الفيروس أثناء الاكتساب، وكذلك قصر بقاء الفيروس عند طول فترة تغذية التلقيح.

5-5- مكان حمل الفيروس غير الباق بواسطة الناقل Virus site of retention

والمقصود به المكان المتخصص داخل الناقل الحشرى والذى يحمل عليه أو عنده الفيروس نتيجة التوافق (Compatibility) بين مكان الاحتفاظ وجزئ الفيروس. وهناك نظريتان لتحديد مكان الاحتفاظ بالفيروس غير الباق.

5-5-1- إحتفاظ خارجى External stylet tip

وهو أن مكان الاحتفاظ بالفيروس هو قمة الرمح الذى يتلوث بالفيروس خلال التغذية القصيرة على نبات مصاب. وإعتمدت النظرية في البداية على نتائج الاختبارات الآتية:

- عند معاملة قمة رمح حشرات المن الحاملة للفيروس وذلك بالفورمالدهيد أو الأشعة فوق البنفسجية (U.V) كانت النتيجة ضعف أو إنعدام القدرة على النقل. 'لا أنه يجدر عدم تجاهل تأثير هذه المعاملات على الحشرة نفسها فقد لوحظ فعلاً أن الحشرات المعاملة تفقد القدرة على التغذية لمدة 15 دقيقة بعد المعاملة.
- حشرات المن *Myzus persicae* تم تخديرها ثم غمس الرمح في أنبوبة شعرية تحتوى على فيرس (CMV) وإستطاعت الحشرات بعد الإفاقة أن تنقل الفيروس بالتغذية على نباتات سليمة إلا أنه يجدر عدم إستبعاد الإكتساب الداخلى للفيروس عن طريق حركة البلعوم اللاإرادية أو عن طريق الخاصة الشعرية حتىأثناء فترة التخدير.

5-5-2- إحتفاظ داخلى Internal site of retention

وفيها أن الفيروس يمكن أن يحفظ في حدود المسافة بين قمة الرمح حتى نهاية القناة الهضمية الأمامية (وهى المسافة التى تفقد بالانسلاخ). أى أن الفيروس يصل إلى القناة الهضمية الأمامية ويطلق سراحة منها خلال التغذية على نبات سليم حين تدفع الحشرة بعض السائل المحتوى على الفيروس نتيجة الاجترار (Regurgitation). وقد ثبت حدوث الاجترار في حشرات المن فعلاً نتيجة إختبار تغذية حشرات المن على نبات تم تعليمه بمواد مشعة (Labelling with P_{32} radioactive)، لقياس مقدار العصير الممتص والمرتجع ولوحظ الآتى:

- إكتسبت الحشرة كمية أكبر من الجزيئات المشعة بعد 5 دقائق عنه إذا ما تغذت لفترة 8 دقائق. وعلى ذلك فالفاقد من العصير لابد وأن يكون مرتجع ثانية إلى النبات.
- بعد 3 دقائق تغذية تلقيح على النبات، استطاعت الحشرة أن ترجع إلى النبات كمية لا بأس بها من الجزيئات المشعة.
- كمية العصير المرتجعة من الحشرة أكبر من أن يمكن أن يسعها الرمح فقط (على الأقل 10 مرات حجم القناة الغذائية للرمح).

وأستخلص من ذلك أن أغلب المرتجع من العصير جاء من القناة الهضمية الأمامية على أقصى تقدير، ولا يمكن أن يكون من القناة الوسطى لما هو معروف من وجود الصمام المعدى الذى يمنع إرتجاع من المعده.

وقد يكون مقبولاً أن النظريتين لا تتعارضان فقد وجد فعلاً بالفحص بالالكترونميكروسكوبى جزيئات لبعض الفيروسات غير الباقية على السطح الداخلى للإبر الفكية مثل (Tobacco etch virus

TEV"''). وفي جميع الأحوال فإنه مهما كان مكان حمل الفيروس فهو مكان متخصص أي يؤكد علاقة توافق بين الفيروس والحشرة وذلك للأسباب الآتية:

- هناك فيروسات نباتية لا تنقل بالحشرات بالرغم من كفاءتها العالية سواء في إصابة النبات أو الثبات، مثال فيروس (TMV). ولا يمكن تعليل ذلك بشكل جزئي الفيروس فكل من PVY, PVX, TMV يشتركوا في شكل الجزئ الخيطي إلا أن PVY هو الوحيد بينهم الذى ينقل بحشرات المن،أما الأخرين فليس بينهم و بين الحشرات علاقة واضحة.
- وجدت فيروسات في الجهاز الهضمي لحشرات المن *Rhopalosiphum padi, Myzus persicse* التي تغذت على النبات المصاب بالرغم من عدم إمكان الحشرتين نقل الفيروس عند التغذية على نباتات إختبار، فيما يسمى بالمرور غير المتخصص للفيروس (Non-specific passage).

6-الفيروسات نصف الباقية
Semi-Persistent viruses

وتشمل مجموعة من الفيروسات التى تسلك سلوكا وسطا بين الفيروسات الباقية والفيروسات غير الباقية فالفيروس نصف الباق يتشابه مع غير الباق في عدم وجود فترة الحضانة للفيروس داخل ناقله الحشرى وكذلك في أن الفيروس يفقد بانسلاخ الحشرة.

ومن ناحية أخرى فيتشابه الفيروس نصف الباق مع الفيروس الباق في أن كفاءة النقل ترتبط بطول فترة تغذية الإكتساب وكذلك فترة التلقيح، بحيث تزداد الكفاءة بزيادة فترة التغذية. كذلك فان الفيروس نصف الباق يحتفظ به الناقل الحشرى لأكثر من يوم واحد بعد الاكتساب. فالفيروسات نصف الباقية مجموعة غير متجانسة مورفولوجياً تكتسب بواسطة الناقل الحشرى في فترات تغذية تتراوح بين عدة دقائق إلى ساعات وليس خلال الوخزات القصيرة (brief probes).

6-1- خصائص النقل Transmission mechanism

- زيادة فترة الإكتساب أو فترة التلقيح يزيد من كفاءة النقل.
- التجويع قبل الإكتساب ليس له أثرا على كفاءة إكتساب الفيروس.
- الحشرة الناقلة تفقد الفيروس بمجرد الإنسلاخ.
- الفيروس لا ينتقل داخليا إلى ذرية الحشرة الناقل (Transovarial transmission)

6-2- مكان توفر الفيروس في نسيج النبات

- الفيروس نصف الباق يتوفر أساسا في الأنسجة العميقة من النبات (الميزوفيل واللحاء) وبعضها يوجد أيضا في النسيج السطحي epidermis (ويمكن الاستدلال على ذلك بطول فترة الاكتساب). وحيث أن الفيروس لا ينحصر وجوده في النسيج السطحي فقط، فذلك يفسر أهمية تعمق رمح المن وإرتباط كفاءة الاكتساب بطول فترة التغذية.
- بالرغم من توفر الفيروس في النسيج السطحي للنبات فيبدو أن تركيزه لا يكفي بدليل أن الحشرة (المن) لا يمكن أن تكتسب الفيروس خلال الوخزات القصيرة (ويعتبر ذلك إختلاف جوهرى بين الفيروس غير الباق ونصف الباق).
- قابلية الفيروس نصف الباق للإنتقال بالعصير ترتبط إلى حد ما بمكان وجود الفيروس داخل نسيج النبات. فالفيروسات التى تتوفر في النسيج السطحي مثل فيرس اصفرار اللفت (PYFV) تنقل بالعصير بسهولة، أما تلك التى ينحصر وجودها في الانسجة العميقة مثل (SBYV)فيرس اصفرار بنجر السكر فلا يمكن نقلها بالعصير أو تنقل بصعوبة بالغة.

6-3- مكان حمل الفيروس نصف الباق بواسطة الناقل:

Virus site of retention

تلك الفيروسات التى يحتفظ بها الناقل ساعات وأيام، من الصعب تصور بقائها لتلك الفترة خارجيا على أجزاء من رمح الحشرة. كذلك لا يمكن قبول إحتمال أن الفيروسات نصف الباقية يمكن أن تعيش مدة أطول على الرمح، لأن ذلك كان أولى بالفيروسات غير الباقية ذات القدرة الأعلى على الثبات. وعلى ذلك فان نظرية الحمل الداخلي إلى القناة الهضمية الأمامية (foregut) كانت هى الأكثر قبولا إلى أن شوهدت فعلا جزيئات فيرس نصف باق هو فيرس اصفرار الكرفس (AYV) في تجمعات قرب الجدار الداخلى للقناة الهضمية الأمامية في كتل محددة ومنفصلة عن كتل الغذاء، وذلك عند فحص قطاعات طولية لحشرة المن تحت الإلكترومیکروسکوب. و يوضح الشكل التالي (النجار 1979) صورة بالميكروسكوب الالكترونى لقطاع طولي في القناة الهضمية الأمامية لحشرة المن الحاملة للفيروس نصف الباق و تظهر فيها جزيئات الفيروس في وسط جيلاتيني على السطح الداخلى لجدار القناة الهضمية الامامية (foregut) :

Particles in aphids transmitting AYV and PYFV

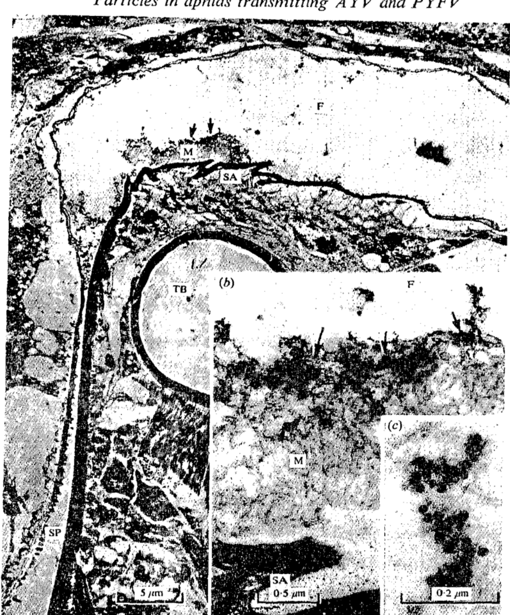


Fig. 2. (*a*) Dorso-ventral longitudinal section through the anterior alimentary tract of *Cavariella aegopodii* which had fed for 24 h on chervil containing AYV and then for 2 h through a membrane on a purified preparation of PYFV in 10 % sucrose. The section shows the junction of the sucking pump (SP) with the foregut (F) in the region of the tentorial bar (TB). Virus-like particles (arrows) are embedded in a matrix of M-material (M) overlying the spiked area (SA) of the ventral intima of the foregut. Insets (*b*) and (*c*) are progressively greater enlargements of the matrix area. In inset (*c*) the densely staining material surrounding the virus-like particles is clearly visible. (Elnagar *et al* 1979)

7- "النقل المُعْتَمِد للفيروسات بواسطة المن"
"Dependent transmission of aphid-borne viruses"

لوحظت في بعض الفيروسات التي ينقلها المن ظاهرة النقل المعتمد فيما يطلق عليه بالتراكيب الفيروسية المعقدة (Dependent / helper virus complexes). كل تركيب معقد (Virus complex) يشمل على الأقل فيروسان أحدهما الفيروس المعتمد (Dependent virus) وهذا لا يمكن أن ينقله المن إلا في وجود فيرس آخر هو الفيروس المساعد (Helper virus). وعادة يشار للتركيب Dependent / Helper.

أمثلة للأنظمة الفيروسية في الاعتماد و المساعدة

Dependent / Helper virus complex

فيروس (Y) البطاطس/ فيروس البطاطس(c) (PVC / PVY)	مجموعة الفيروسات غير الباقية non-persistent virus))
فيروس (Y) البطاطس/ فيروس البطاطس (Acuba) ((PAMV/ PVY	مجموعة الفيروسات غير الباقية non-persistent virus))
فيروس اصفرار الكرفس/فيروس التبقع الأصفر في اللفت (PYFV / AYV)	مجموعة الفيروسات النصف الباقية semi- persistent virus
سلالتين مختلفتين من فيروس موزيك القرنبيط CLMV/ CLMV) strains complex)	مجموعة الفيروسات النصف الباقية semi persistent virus complexes
فيروس احمرار الجزر / فيروس تبقع الجزر Cmotv/CRLV	مجموعة الفيروسات الباقية (persistent virus)
سلالتين مختلفتين من فيروس التقزم الأصفر في الشعير BYDV/BYDV) strains complex)	مجموعة الفيروسات الباقية (persistent virus)

ومن الثابت حتى الآن أن الفيروس المعتمد والفيروس المساعد في أى تركيب كلاهما من نفس النوع من حيث العلاقة بالناقل.

افتراضات لتفسير ظاهرة النقل المعتمد

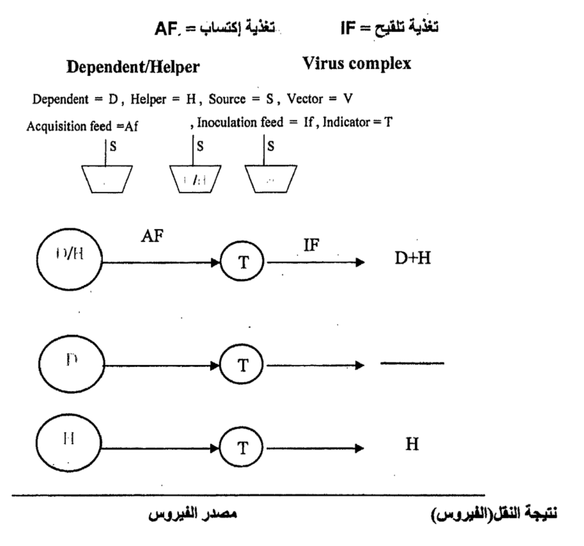
منذ إكتشاف الظاهرة وضعت لها عدة إقتراحات لتفسير طبيعة النقل بالمساعدة كالآتى:

- وجود الفيروس المساعد في نفس النبات المصدر (source) يحدث تغييرا في توزيع جزيئات الفيروس المعتمد داخل النسيج النباتى بصورة تجعله متاحا للحشرة الناقلة أثناء الإكتساب.
- أن الفيروس المساعد يعمل على تنشيط تكاثر الفيروس المعتمد داخل نسيج النبات بحيث يصل إلى تركيز متاح للحشرة الناقلة.
- قد يحدث تغيرات شبه وراثية للفيروس المعتمد نتيجة مصاحبة الفيروس المساعد له.

لكن الدراسات المستفيضة الحديثة على التراكيب الفيروسية أوضحت تماما طبيعة النقل فيها وبالتالي قدمت تفسيرات مؤكدة لكيفية المساعدة في كل نوع من التراكيب الفيروسية المعروفة:

مجموعة الفيروسات غير الباقية و نصف الباقية
(Non- & Semi-Persistent- Viruses

مصدر الفيرس		تغذية اولى		تغذية ثانية		تلقيح	نقل	نتيجة النقل
المساعد (H)	AF →	(D)	AF →	(T)	IF →	+	D+H	المساعد + المعتمد
المعتمد (D)	→	(H)	→	(T)	→	+	H	المساعد فقط
المساعد (H) / المعتمد (D)	→		→	(T)	→	+	H	المساعد فقط

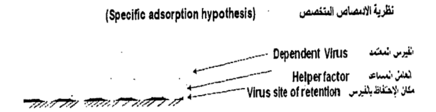


7-1- طبيعة المساعدة في التركيب الفيروسى غير الباق ونصف الباق

أوضحت التجارب الحقائق الآتية :

- تغذية الإكتساب المتتابعة (Sequential- feed) على مصدر للفيروس المساعد يليه مصدر للفيروس المعتمد يمكن بعدها إكتساب الناقل للفيروس المعتمد ونقله.
- التغذية المتتابعة على الفيروس المعتمد أولا يليه الفيروس المساعد ثانيا تؤدى فقط إلى إكتساب وإنتقال الفيروس المساعد.
- تعريض نبات الإختبار لمجموعتين من الحشرات أحدهما من مصدر الفيروس المساعد والثانية من مصدر الفيروس المعتمد يؤدى فقط إلى إكتساب وإنتقال الفيروس المساعد.

من ذلك يتضح أن طبيعة المساعدة في هذه الحالة تتم خلال مرحلة الإكتساب، وأن الحشرة الناقلة يلزم لها إكتساب الفيروس المساعد أولا أو شئ ما من مصدره النباتى حتى يكون لها القدرة على إكتساب الفيروس المعتمد(سواء كان ذلك في مصدر مشترك للفيروسات أو في مصدرين منفصلين لهما).



وبالتالى يتم نجاح نقل الفيروس المعتمد بواسطة الحشرة. وهنا نشأت نظرية الادمصاص المتخصص (Specific adsorption hypothesis)، وهى أن الحشرة بعد تغذيتها على مصدر الفيروس المساعد يحدث بها تحوير أو تهيئة (modification) في المكان المتخصص لحمل الفيروس (site of retention) يؤدى إلى إمكانية الحشرة الاحتفاظ بالفيروس المعتمد عن طريق إدمصاصه إلى المكان المهيأ لذلك. وهنا ظهر رأيان لكيفية تهيئة هذا الاحتفاظ:

- أن الفيروس المعتمد يدمص على سطح الفيروس المساعد الذى بدوره مدمصا إلى المكان المتخصص في الحشرة.
- أن الحشرة في الواقع تكتسب من نسيج النبات المصاب بالفيروس المساعد شيئا ما يسمى بالعامل المساعد (Helper factor agent) يختلف تماما عن جزيئات الفيروس المساعد نفسه وهذا العامل هو المسؤول عن التهيئة. ومن الجدير بالذكر أن تثبيط الفيروس المساعد لا يمنع القدرة على المساعدة (في تجارب المعاملة بال UV). وقد تمكن بعض الدارسين من تحضير هذا العامل المساعد وتعريفه بدقة في النبات مصدر الفيروس المساعد.

2-7- طبيعة التركيب الفيروسى الباق Persistent virus- complex

لم تؤدي محاولات التغذية المتتابعة (Sequential feed) إلى مساعدة الفيروس المعتمد على الانتقال بواسطة الناقل كما سبق في الفيروسات غير الباقية. وقد استنتج من جميع المحاولات أنه يلزم وجود الفيروس المساعد مصاحبا للفيروس المعتمد في نفس نسيج النبات المصدر للفيروس حتى يمكن للحشرة أن تكتسب الفيروس المعتمد ونقله بكفاءة.

وقد فسر ذلك بأن قابلية الفيروس المعتمد للنقل بواسطة الحشرة، تنشأ نتيجة تفاعل بين الفيروس المساعد والفيروس المعتمد أثناء تكاثرهما داخل نسيج النبات. وقد ثبت أيضا أن هذا التفاعل لا يحدث

داخل جسم الناقل الحشرى، فقد فشلت المحاولات لنقل الفيروس المعتمد عن طريق حقنه في دم الحشرات الحاملة للفيروس المساعد. وقد يكون ذلك بسبب أن جميع التراكيب الفيروسية الباقية المعروفة للآن لا تتكاثر داخل جسم الناقل الحشرى.

وقد وضعت نظرية الخلط المظهرى (Heterologous encapsulation) لتفسير الاعتماد والمساعدة في حالة التركيب الفيروسي الباق. وفيها: أن الغلاف البروتيني لجزئ الفيروس هو الذى يحمل خاصية القدرة على الانتقال بالحشرة وأن خلال تكاثر الفيروسان يحدث نوعا من الخلط المظهرى(Phenotypic mixing) بحيث أن الحامض النووى للفيروس يتبادل الغلاف البروتيني (Coat protein) للفيروس الأخر أو على الأقل جزء من هذا الغلاف(شكل A).

وعلى ذلك فان الفيروس المعتمد يكتسب الصفة المظهرية للفيروس المساعد أو جزءا منها مما يهيئ للفيروس المعتمد القابلية للنقل عن طريق الحشرة.

وقد أمكن عمليا إثبات حدوث الخلط المظهرى بين التراكيب الفيروسية الباقية عن طريق معاملة مستخلصات فيرسية من نباتات مصابة بالتركيب الفيروسي بإضافة المصل المضاد لأحد الفيروسين ثم إختبار قابلية الناقل الحشرى لإكتساب الفيروس عن طريق التغذية من خلال أغشية صناعية ثم إنتقاله إلى دليل نباتى كالآتى:

مستحضر من الفيروس المساعد (Helper (H

مستحضر من الفيروس المعتمد (Dependent (D

مستحضر من التركيب الفيروسى (Dependent / Helper (D/H

ثم إضافة المصل المتخصص إلى المستحضرات المختلفة لإستنتاج الحصول على الصورة المختلطة من الفيروسات:

مصل antiserum متخصص للفيروس المساعد (a H)

مصل antiserum متخصص للفيروس المعتمد (a D)

Antigen + Antiserum = Supernatant

ويختبر الناتج ((Supernatant بتغذية حشرات المن الناقلة خلال الأغشية الصناعية (Parafilm membranes). كما يبينه التسلسل التوضيحي التالي:-

Transmission (D)	Transmission (H)	antiserum	+ Antigen
+	+	D	D/H
-	-	H	D/H
-	-	H	H
-	-	D	D

Antigen from (S) : (D/H) (H) (D) + Antiserum (a H) or (a D) → Supernatent → Membrane feed or injection → Transmission

Antigen		Antiserum		Transmission (H)	Transmission (D)
D / H	+	a D	→	+	+
D / H	+	a H	→	-	-
D	+	a D	→	-	-
H	+	a H	→	-	-
D	+	a H	→	-	-
H	+	a D	→	+	-

(الخلط المظهري وتبادل الأغلفة بين الفيروسات A شكل)

)Heterologous encapsidation(

Presistant D/H Virus Complex

Dependent= D _ _ _ _ _ Helper = H _________

D D H D H H D H

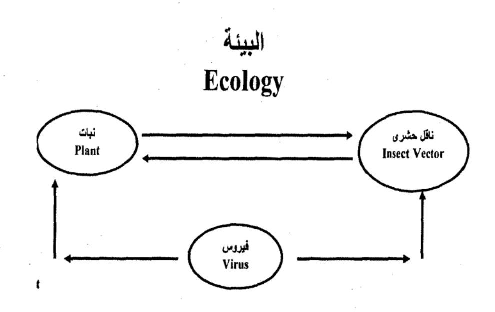
8 - إيكولوجى الفيروسات التى تنقلها الحشرات

Ecology of Insect- Borne Viruses

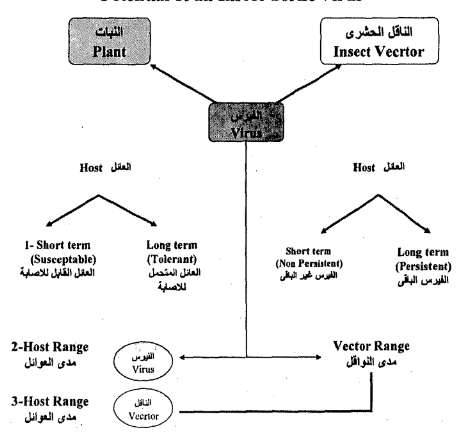
تنتشر الفيروسات النباتية من مصادرها في الطبيعة، بواسطة الناقل الحشرى الذى ينتشر أيضا بين العوائل النباتية تبعا لظروف ومؤثرات بيئية على طبيعة وإتجاه حركة تلك الحشرات بجانب كفاءة العلاقة بين الحشرة والفيروس والنبات، والتى تنعكس على العوامل المباشرة الآتية:

- المدى العوائلى - نوع العائل
-- نوع الإصابة و الانتقال عن طريق البذور
- العوائل البرية المتاحة (مخازن الفيروسات والحشرات)
- تركيز الفيروس في النبات المصاب
- تأثير سلالات الفيروس والاصابة المشتركة وغيرها من علاقات أخرى بيولوجية غير مباشرة.

البيئة
Ecology



Potential of an Insect-borne Virus



وعادة يكون إنتشار الفيروس إلى (into) محصول ما بواسطة حشرات مهاجرة إلى هذا المحصول. ثم يلي ذلك إنتشار الفيروس داخل (within) هذا المحصول والذى يفترض أنه يتم بواسطة الإنتشار أو الهجرة المحدودة لتلك الحشرات. وتظهر هذه الصورة بوضوح أكثر في الأنواع الناقلة من حشرات المن وكذلك في حالة الفيروسات غير الباقية ونصف الباقية والتى تلعب فيها شحنة الفيروس دورا رئيسيا.

و فيما يلى أكثر العوامل أهمية في انتشار الفيروس في البيئة:

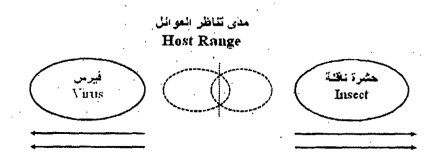
8-1- سلوك الطيران والهجرة للناقل الحشرى وأختيار الغذاء

وهذا العامل يمثل حركة الحشرة الناقلة وإنتشارها على العوائل النباتية. ويتأثر ذلك السلوك بالمدى العوائلى للحشرة وسلوك إختيار العوائل. ومثال ذلك علاقة سلوك حشرات المن بانتشار الفيروسات، فان أفراد المن المجنح تنجذب إلى الأوراق الخضراء الطرفية للنباتات بصرف النظر عن نوع النبات، أى أن حشرات المن لا يمكنها تمييز عوائلها النباتية إلا بعد إجراء وخزات قصيرة أولية في نسيج النبات (short probes) ثم تتحرك بعدها إلى نباتات أخرى مجاورة، وذلك في طريقها للبحث عن العائل النباتى المفضل. حيث أن حركة حشرات المن تحدث عادة لمسافات قصيرة. وهذا السلوك المميز لحشرات المن هو المسؤول عن كفاءة إنتشار الفيروسات غير الباقية في الطبيعة للأسباب الآتية:

- ملائمة الوخزات القصيرة السطحية لإكتساب وتلقيح الفيروس.
- زيارة عوائل نباتية كثيرة بما يضمن إنتشار الفيروس على عوائله التى قد لا تكون عوائل للحشرة الناقلة.

8-2- طبيعة العائل النباتى

زيارة الحشرة الناقلة لعائل نباتى من المحاصيل المستديمة في الحقل أى بداية الإصابة في عائل مستديم يضمن مصدر مستمر من الفيروس ينتشر منه بواسطة الناقل. في حين أن بدء الإصابة في عائل حولى (المحاصيل الحولية) يضمن مصدر موسمى من الفيروس إذ ينتهى بانتهاء فترة بقاء المحصول الحولى.



وكذلك حساسية العائل النباتى ودوره كمخزن، في حالة العوائل التى تتحمل الإصابة (Tolerant) تلعب دوراً هاماً في حفظ ونشر الفيروس في البيئة.

8-3- الظروف الجوية والأساليب الزراعية

تؤثر ظروف الجو المختلفة في إحداث تغيرات في سلوك الحشرات الناقلة ومنها ظروف الهجرة القصيرة والطويلة وكذلك تبادل العوائل (كما هو الحال في حشرات المن). وكذلك تلعب الرياح دورا هاما في زيادة وإتجاه حركة الناقلات الهامة من نطاطات الأوراق والمن. ولأساليب العمليات الزراعية دورا في توفر أو عدم توفر العوائل للحشرات الناقلة وكذلك للفيروسات. كما قد تؤدى أساليب المكافحة عن طريق إزالة المصادر النباتية للفيروس إلى زيادة إنتشار الفيروسات بواسطة الناقلات الحشرية.

8-4- قدرة الفيروس على البقاء في الطبيعة Perenniality

من الضرورى للفيروسات- خصوصا الفيروسات غير الباقية التى لا ترتبط بالناقل لفترة طويلة- من أساليب تضمن بقائها بين الفصول في مخازن من العوائل النباتية لتكون مصادر لإنتشار الفيروس عندما تتوفر الناقلات الخاصة به. وتلك المخازن النباتية هى عوائل للفيروس تتحمل الإصابة به (Tolerant) بحيث لا تظهر أى علامات للإصابة به أو علامات بسيطة لا يتأثر معها العائل تأثيرا ضارا. ولذلك كانت الحشائش البرية (مستديمة وحولية) من أهم مخازن الفيروسات، علاوة على العوائل من المحاصيل خصوصا الأشجار والشجيرات المستديمة. كما تمر بعض الفيروسات عن طريق البذور والجذور والدرنات، أى عن طريق مخلفات المحصول السابق.

8-5- فرصة انتشار الفيروسات المختلفة

يبدو أن الفيروسات غير الباقية قد تحظى بفرصة إنتشار أكبر على عوائلها بواسطة الناقل أما في حالة الفيروسات الباقية فان فرصة انتشارها تتحدد أساسا بوصول الناقلات الحاملة لها إلى عوائل نباتية ملائمة للحشرة حتى تتوفر ميكانيكية التغذية الطويلة والمناسبة لتلقيح الفيروس وكذلك لإكتسابه بواسطة الحشرات غير الحاملة للفيروس.

إلا أن فترة بقاء الفيروس داخل الحشرة تضيف ميزة تعويضية لإتاحة الفرصة لإنتشار الفيروس بواسطة الناقل. وبديهيا أنه كلما طالت فترة بقاء الفيروس داخل الناقل زادت فرصة إنتشاره في الطبيعة لتصل إلى أقصاها في حالة الفيروسات التكاثرية Propagative.

وتعتبر ظاهرة التراكيب الفيروسية Dependent / helper virus systems مجالا جديدا للأخذ في الاعتبار إحتمالات لمشاكل فيرسية جديدة يمكن أن تظهر وتنتشر إذا ما أستجد في بيئة الفيروس المعتمد (Dependent) فيروسا مساعدا أو العكس. أى أنه من المحتمل أن يكون هناك عاملا بيئيا يفصل بين أى أو كلا من فيروس معتمد (Dependent virus)، وفيروس مساعد (Helper virus)، وحشرة ناقلة (Insect vector). وعموما فإن الفيروس المعتمد من النوع غير الباق يتمتع أيضا بفرصة انتشار في البيئة لا بأس بها بواسطة الحشرة الناقلة خصوصا أن دور الفيروس المساعد في التراكيب غير الباقية لا يتعد مرحلة الاكتساب، كما أنه ليس بالضرورة تواجد الفيروس المساعد مصاحبا للفيروس المعتمد في نفس النبات.

وقد تبدو الصورة مختلفة بالنسبة لفرصة انتشار الفيروس المعتمد في حالة التراكيب الفيروسية الباقية، إذ يلزم تلازم كلا من الفيروس المعتمد والفيروس المساعد في نفس العائل النباتي المصدر للفيروس (Virus source plant) كشرط لنجاح الاكتساب (Acquisition) للفيروس المعتمد، إلا أن ذلك يعوضه طول فترة بقاء الفيروس داخل الناقل. ومن المحتمل أن تزيد فرصة الانتشار إذا ما كانت هناك تراكيب فيرسية تكاثرية.

9- أساليب مكافحة إنتشار الفيروسات التي تنقلها الحشرات

تعتمد تلك الأساليب أساسا على طرق مضمونها قطع السلسلة الطبيعية لتعاقب بقاء الفيروس في البيئة، وهى طرق وقائية بالدرجة الأولى لأن الشفاء من الفيروس نادر :

- التخلص من المخازن الطبيعية للفيروسات في البيئة وذلك بالازالة المتكاملة للعوائل البرية والنباتات المصابة بعد التأكد من خلوها من الحشرات الناقلة.

- إستعمال الصوب الزجاجية الكبيرة لانتاج نباتات الاكثار تحت ظروف وقائية تسمح بسهولة إستبدال النباتات والحصول على تقاوى نظيفة.
- برامج متكاملة لإكثار تقاوى خالية تماما من الفيروسات ذات الكفاءة العالية على البقاء والإنتشار في البيئة:

بعض الفيروسات ذات قدرة إنتشار فائقة قد تؤدى إلى القضاء تماما على محصول ما ويصعب معها التأكد من خلو نباتات الاكثار من الفيروس. وفي هذه الحالة توضع برامج متكاملة لانتاج نباتات إكثار نظيفة تماما ومعتمدة. ولضمان ذلك تبدأ تلك البرامج عن طريق عمليات زراعة الأنسجة من تلك النباتات (Tissue culture) . ومثال ذلك:

برنامج إنتقاء الخس للحد من فيرس موزيك الخس.. والبرنامج المتكامل لانتقاء تقاوى البطاطس للحد من فيروسات البطاطس.

ولا شك أن الأمر يزداد صعوبة في حالة المحاصيل المستديمة التى يصعب إستبدالها مرات عديدة في حالة إصابتها بالفيروس مثال إصابة أشجار الموالح بفيرس citrus tristiza.

9-1- إجراءات لمكافحة الحشرة الناقلة أو الوقاية منها

- إجراءات مكافحة كيميائية في الأوقات المناسبة لوقاية المحاصيل من الناقلات الحشرية المهاجرة، ويلزم معها دراسات بيئية لتحديد الوقت المناسب والحد الحرج من تلك الأعداد.
- قد يفيد استعمال انعكاسات ضوئية في الحقول، والتي ثبت لها تأثير طارد لأفواج حشرات المن المهاجرة.
- قد يفيد استعمال بعض الزيوت المعدنية الخاصة لرش العوائل النباتية مما يعرقل كفاءة الحشرة في إكتساب أو تلقيح الفيروس. وتظهر أهمية ذلك الإجراء في حالة المحاصيل المستديمة.

9-2- إجراءات الحجر الزراعى الجيد

وذلك سواء لحماية مناطق الاكثار أو عموما للحفاظ على الحواجز البيئية (Ecological barriers) الطبيعية بين الفيروسات والعوائل النباتية والحشرات الناقلة.

10- الناقلات الحشرية الهامة

بالرغم من وجود ناقلات للفيروس من التربس والذباب الأبيض والبق الدقيقى، والنيماتودا إلا أن أهم ناقلات فيروسات النباتات هى أنواع حشرات المن وكذلك نطاطات الأوراق ونطاطات النبات.

وتعتبر حشرات المن أكبر مجموعة من الحشرات الناقلة وذلك من حيث إرتباطها بأعداد كبيرة من الفيروسات الهامة وتنوع العلاقة البيولوجية بين الناقل والفيروس.

10-1- المن Aphids

تم حتى الآن وصف أكثر من 3800 نوع من المن. جميعها حشرات صغيرة رهيفة الجسم تتغذى على عصير النبات السكرى وتفرز الندوة العسلية وليس لها أنابيب ملبيجى.

من أهم المعلومات في تصنيف وتعريف حشرات المن هو عدد الكروموسومات وترتيبها. ويتراوح عدد الكروموسومات في أنواع المن بين 4، 40 وأكثرها شيوعا 8، 10، 12، 14 (في أزواج). وهناك حالات نادرة يزيد فيها عدد الكروموسومات عن 20 زوجا، ومن الجدير بالذكر أيضا إمكانية التصنيف على مستوى النوع والسلالة عن طريق ما يسمى بالبصمة الوراثية (finger print) من خلال البيولوجيا الجزيئية.

هناك أكثر من 300 نوع من المن معروفة حتى الآن كناقلات لفيروسات النباتات. وقد ينقل النوع الواحد أكثر من فيرس واحد فالنوع *Myzus persicae* مثلا ناقل لحوالى 120 مرض فيرسى.

10-1-1- عادات الطيران والهجرة في حشرات المن

من أهم المعلومات عن الحشرات الناقلة هو سلوك الهجرة والانتشار وعلاقة ذلك بنشر الفيروس.

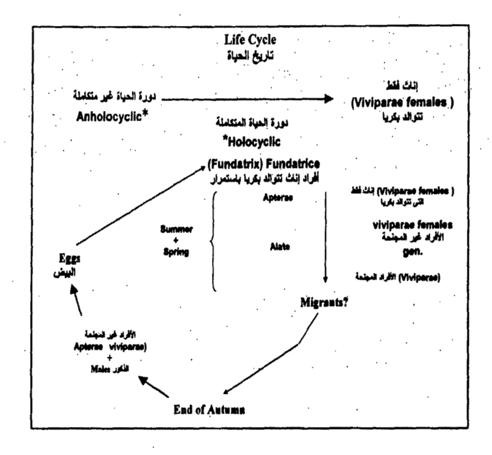
- تميل أفراد المن المجنح إلى الطيران ومغادرة العائل الذى قضت عليه أطوارها غير الكاملة، وذلك بمجرد الوصول للطور الكامل. وهذا السلوك يساعد المن على الانتشار على العوائل النباتية المختلفة حتى الحولية منها ذات فترة النمو القصير.
- حجم تعداد المن Population يتغير فجائيا وبسرعة نظرا للكفاءة التكاثرية العالية وعادات الهجرة والطيران والعوامل البيئية والزراعية المؤثرة في ذلك.
- في عائلة Aphididae التى تشمل كثير من الأنواع الهامة فان عضلات الأجنحة تضمر بعد أيام قليلة من خروج الحشرة الكاملة.
- يسرع المن في الطيران عند توفر ظروف إضاءة وحرارة مناسبة وهناك حد أدنى حرج لكل من هذه الظروف. ومن ناحية أخرى فقد تحمل أفراد المن بواسطة الرياح لمسافات طويلة تبلغ مئات الكيلومترات .

- بجانب الهجرة طويلة المدى (لمسافات طويلة) فهناك في نفس الوقت هجرة قصيرة المدى حيث تطير أفراد لمسافات قصيرة. وعلى ذلك تنتشر الأفراد الناقلة من مصادر نباتية للفيروس إلى عوائل نباتية على مسافات مختلفة. وقد تختلف نسبة الهجرة طويلة المدى إلى قصيرة المدى باختلاف الأنواع من المن.
- من ذلك السلوك في الهجرة فانه نادرا ما يوجد في حشرات المن ما يسمى بالسلالات المحلية أو السلالات الجغرافية. فالسلالات من المن هى أنماط بيولوجية داخل النوع الواحد تختلف في درجة تفضيلها للعوائل النباتية وكذلك في درجة كفاءتها لنقل الفيروس.

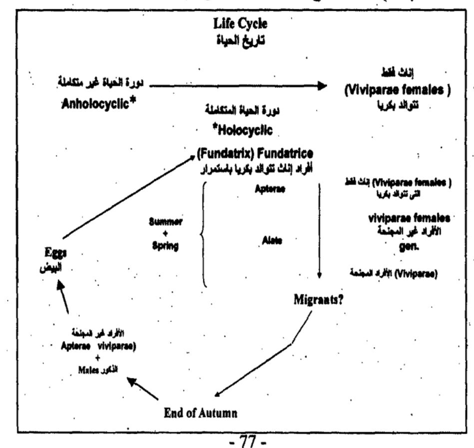
10-1-2- إعتبارات بيولوجية خاصة في حشرات المن

دورة حياة حشرات المن :

- دورة الحياة المتكاملة **(Holocyclic)** هى التى يظهر فيها طور البيضة الذى يقضى فترة الشتاء في حالة سكون. في الربيع يفقس البيض ليخرج منه أفراد (Fundatrix) وهى إناث تتوالد بكريا باستمرار Viviparous females وهى غالبا غير مجنحة وأحيانا مجنحة حسب نوع المن والظروف البيئية. وغالبا ما يسود إنتاج الأفراد غير المجنحة (Apterae viviparae) التوالد لمدة جيل أو جيلين ، بعدها يبدأ إنتاج الأفراد المجنحة (alate Viviparae) تبعا لظروف البيئة والغذاء). ويستمر



التكاثر البكرى حتى الخريف حين يبدأ ظهور الذكور والإناث المعده للإخصاب (Apterous oviparous female)، وتلك تضع البيض الذى يمضى فترة الشتاء.



- دورة الحياة غير متكاملة **Anholocyclic**

في بعض أنواع المن أو تحت ظروف البيئة المعتدلة المناخ تظهر إناث فقط (Viviparae female) التي تتوالد بكريا باستمرار دون حدوث أي تكاثر جنسي أو ظهور طور البيضة.

- تبادل العوائل **Host alternation**

10% تقريبا من أنواع المن تتبادل العوائل بصورة منتظمة فتقضي فترة الشتاء على عوائل أولية (Primary hosts) تمضي عليها طور البيضة، ثم عوائل ثانوية (Secondary host) تتوالد عليها أجيال المن التي تتوالد بكريا في الصيف. ثم في الخريف تظهر بعض الذكور التي تهاجر مع الإناث إلي العائل الأولى، وتتلاقح وتضع الإناث البيض. وفي حالات أخرى تنتج الذكور على العائل الأولى من الإناث المهاجرة. ويسمى المن المتبادل العوائل (Heteroecious aphid) لتمييزه عن الأنواع التي تقضي طول السنة على عائل واحد (Monoecious aphid).

ويلاحظ عند تربية الأنواع المتبادلة العوائل تحت الظروف المعملية أنه يجب تزويدها بفترات إضاءة إضافية في ظروف النهار القصير حتى لا تتكون الأفراد التناسلية المهاجرة.

- الأفراد المتقزمة **Summer dwarf**

تحت ظروف الحرارة العالية في الصيف تظهر بعض أفراد المن في صورة متقزمة وتسمى (Summer dwarf)، تلك الأفراد تقل كفاءتها التناسلية عن الأفراد العادية علاوة على غياب أو خلل في بعض صفاتها المورفولوجية الهامة مثل شعر الجسم والألوان التي تميزها تقسيميا. هذا وقد تؤدى الحرارة العالية إلي أن بعض أنواع المن تقضي فترة من السكون (Diapause) خلال الصيف على هيئة حورية عمر أول.

وعموما فان النمو غير الطبيعي لأفراد المن يحدث خللا في العمليات الفسيولوجية وقد يؤدي إلي تغيرات هامة مثل حدوث خلل في حاجز القناة الهضمية (Gut barrier) والذي يلعب دورا هاما في الأنواع الناقلة للفيروس، بحيث تتأثر القدرة على نقل الفيروس.

3-1-10 - العائل النباتي لحشرات المن

حشرات المن بشكل عام يطلق عليها شديدة التخصص من حيث إختيار العوائل:

يلعب المدى العوائلي (host range) دورا هاما في تعريف أنواع المن. كثير من الأنواع على درجة من التخصص على عائله النباتي بينما القليل له مدى عوائلي واسع. ويصل التخصص إلي مستوى النوع النباتي أو الجنس (مثل من الرمان).

- بعض أنواع المن تفضل المستعمرات المتجمعة أو الكثيفة على جزء ما من النبات وأنواع أخرى تنتشر على كل أجزاء النبات، كما أن بعض الأنواع تقضي بعض الأجيال على جذور عوائلها النباتية (مثل من النجيليات).
- لعاب المن قد يكون ساما للنبات العائل محدثا بعض الأعراض مثل التجعد أو تغير اللون (Discoloration)، والتي تتشابه مع أعراض الإصابة بالفيروس.

11- حقائق مشتركة في كل العلاقة القائمة في فيرولوجيا الحشرات

- أن الفيروسات التي ترتبط بالحشرات عموما سواء كانت فيروسات نبات أو حيوان أو حشرات فإن خط سير الفيروس الرئيسي هو عن طريق الفم و القناة الهضمية للحشرة(Gut barrier) .
- يلعب جدار القناة الهضمية دورا ملحوظا كحاجز متخصص (Specific barrier) في إنتقال الفيروسات إلى الدم. و يبدو أنه لا يتأثر حتى بإصابة الحشرة بالفيروس.
- أن ملاحظة إرتباط فيرس ما بالحشرة يرجع اساسا لحدوث حالات مرضية أو موت لعوائل الفيروس سواء نباتية أو حيوانية أو الحشرة ذاتها. إلا أن وجود علاقة لا تؤدي إلى حدوث تلك الظواهر إحتمال قائم.
- يجب الأخذ في الإعتبار أن بعض الفيروسات التي تصيب الفقاريات يمكنها التكاثر بدرجة ملحوظة في حشرات ليست عوائل أو نواقل لها و ذلك بدون حدوث أى ظواهر مرضية تلفت النظر إليها.
- و هنا نصل إلى أهمية الاحاطة بالصورة الكبرى للفيروسات في البيئة (Viruses in the environment)

اذ ان اعتماد الفيروس في الإنتشار على الحشرة - و كلاهما قديم العلاقة - يتطور الى تأقلم الفيروس على عوائل أخرى جديدة بل و أنماط مختلفة من العوائل .

و تظل دائما إحتمالات مستقبلية لتأقلم الفيروسات على أنواع و أنماط جديدة من العوائل في البيئة و ذلك نتيجة لنشاط الفيروس المميز في أنه أول مهندس وراثي طبيعي بين الكائنات على الأرض .

أ.د. صلاح الدين النجار

(*References*) المراجع

- ***Insect virology***

by Kenneth M. Smith (1967). Academic press

- ***Virus Insect Relationships***

(by Kenneht Manley Smith (1977

- ***Advances in Virus Research***

by Karl Maramorosch (1986)

- ***The Insect Viruses (The Viruses)***

by Lois K. Miller and L. Andrew Ball (**Kindle Edition** - (1998)

- ***Virus-Insect-Plant Interactions***

by Kerry F. Harris, Oney P. Smith, and James E. Duffus (2001)

- ***Introduction to Modern Virology***

.(by Nigel Dimmock, Andrew Easton, and Keith Leppard (2007

الفيروسات والحشرات

الفيروس جزىء بروتينى معقد له نشاط حيوى ممرض فى البيئة. من خلال علاقات معقدة.

فالفيروسات فى بيئة الإنسان تمثل قدرا من التنوع البيولوجى (Biodiversity) يفوق كل ما هو موجود من تنوع داخل المملكة الحيوانية و النباتية مجتمعة .

و هذا فى الواقع نتيجة لنجاح الفيروسات فى التطفل على جميع الكائنات الحية المعروفة.

وهذا التنوع الكبير بين الفيروسات هو المفتاح للتعرف على العلاقات المتداخلة بين الفيروسات و عوائلها المختلفة من الكائنات الحية.

ويمثل علم فيرولوجىا الحشرات حلقة بينية توضح عبور الفيروس بين انماط مختلفة من العوائل النباتية والحيوانية:ـ

و الحشرات مجموعة كبيرة من الكائنات الحية من ناحية الكم والتنوع، فان ثلاثة أرباع المملكةالحيوانية (Animal Kingdom)من صف الحشرات (Class: Insecta). والحشرات قديمة التواجد علي الأرض ، حيث تشير الحفريات إلي قدم يصل إلي أكثر من 200 مليون سنة (في حين أن عمر الإنسان نفسه لم يصل إلي مليون سنة). كذلك فإن الفيروسات يصل قدمها الى 170 مليون سنة على الأقل. و ترتبط الحشرات بمجال واسع من فيروسات متنوعة والتي منها مايسبب أمراضاً للحيوانات الفقارية واللافقا
للنباتات.

و من المعتقد أن الحشرات إكتسبت الفيروسات المرتبطة
بحيث أن جميع الفيروسات المرتبطة بالحشرات هى فى الواقع
واحد النشأة.







Design by/ Doaa M Sultan